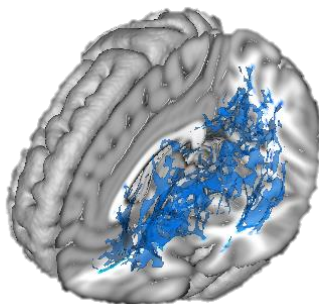


Primaaris-progressiiviseen multippeliskleroosiin liittyvän aksonaalisen degeneraation diffuusioparametrien kronologinen analyysi

Chronological analysis of axonal degeneration associated with MS disease



Syventävien opintojen kirjallinen työ

Janne Lehtinen

Tampereen yliopisto

Neurologian yksikkö / Neuroimmunologian ryhmä

Tampereen yliopisto
Lääketieteen yksikkö
Neuroimmunologian tutkimusryhmä

JANNE LEHTINEN: PRIMAARIS-PROGRESSIIVISEEN MS-TAUTIIN LIITTYVÄN AKSONAALISEN
DEGENERAATION KRONOLOGINEN DIFFUUSIOPARAMETRIEN ANALYYSI

Kirjallinen työ, 36 s.
Ohjaaja: Professori Irina Elovaara

Huhtikuu 2016

Avainsanat: MRI, diffuusiotensori, EDSS, aksonivaurio, fraktionaalinen anisotropia, kvantitatiivinen
diffuusiokerroin, aksiaalinen diffuusio, radiaalinen diffuusio

Primaaris-progressiivisen multippelin skleroosin etenemisen ja siihen liittyvien
diffuusioparametrien muutoksista on julkaistu niukalti tietoa.

Tässä työssä seurattiin 15 primaaris-progressiivista MS-tautia sairastavaa potilasta noin viiden
vuoden ajan. Seuranta-aikana tutkittavista otettiin 2–4 aivojen diffuusiopainotteista
magneettikuvaa sekä arvioitiin toimintakykyä EDSS-asteikon (*Expanded Disability Status Scale*)
avulla. Tutkittavan ryhmän ensimmäiset magneettikuvat toimivat vertailutasona, johon
myöhempiä kuvia verrattiin. Tilastollisesti merkitseviä ($p \leq 0,05$) diffuusioparametrien muutoksia
etsittiin kahden riippuvan muuttujan T-testillä käyttäen Oxfordin yliopiston FMRI-ryhmän
kehittämää FSL-ohjelmistokirjastoa. Lisäksi tässä työssä tutkittiin diffuusioparametrien muutoksien
ja EDSS-asteikon välistä korrelaatiota.

Tuloksina havaittiin laaja-alaisia muutoksia supratentoriaalisen, pikkuaivojen ja aivorungon
valkeassa aineessa. Muutokset olivat kvantitatiivisen diffuusiokertoimen, aksiaalisen ja radiaalisen
diffuusion arvojen osalta pääasiassa nousevia. Fraktionaalisen anisotropian muutokset olivat sekä
nousevia, että laskevia, joista arvojen lasku sijoittui aivorungon alueelle ja nousu
supratentoriaalisen oikean hemisfäärin alueelle.

Kvantitatiivisen diffuusiokertoimen nousu voi johtua sairauteen liittyvien tulehduksellisten
muutosten aiheuttaman aivoatrofian ja siitä johtuvasta kudosten vesipitoisuuden noususta.
Fraktionaalisen anisotropian lasku liittyy hermosäiekimppujen demyelinisaatioon. Koska
tervettä vertailuryhmää ei ollut käytettävissä, ei tulosten mahdollisen sairaudesta johtuvan
poikkeavuuden osalta voida vetää lopullisia johtopäätelmiä. Tilastollisesti merkitsevää
korrelaatiota diffuusioparametrien ja EDSS-asteikon välillä ei tässä työssä löytynyt.

SISÄLLYSLUETTELO

1	Johdanto.....	1
1.1	Multippeli skleroosi.....	2
1.1.1	Epidemiologia.....	2
1.1.2	Patofysiologia.....	3
1.1.3	Etiologia.....	4
1.2	Diffuusiotensorikuvaus ja diffuusioparametrit	7
1.3	FSL ohjelmistokirjasto	8
1.4	MS-tautipotilaan toimintakykyä kuvaavat asteikot	9
1.5	Kirjallisuuskatsaus	9
2	Aineisto ja menetelmät.....	11
2.1	Aineisto.....	11
2.1.1	Tutkimuspopulaatio	11
2.1.2	Demografiset tiedot.....	12
2.1.3	Diffuusiomagneettikuvat	13
2.2	Menetelmät.....	14
2.2.1	Magneettikuvien esikäsittely	15
2.2.2	Hermoratakartoitus	15
2.2.3	Diffuusioparametrien tilastollinen analyysi	16
2.2.4	Diffuusioparametrien ja EDSS-asteikon korrelaatioanalyysi	18
3	Tulokset.....	19
3.1	Diffuusioparametrien muutokset.....	19
3.2	Diffuusioparametrimuutosten sijainti ja tilavuus	22
3.3	Diffuusioparametrien ja EDSS-asteikon muutosten korrelaatio	26
4	Pohdinta	28
5	Lähteet	32

1 Johdanto

Primaaris-progressiivinen MS-tauti (PPMS) on multippeliskleroosin alamuoto jota esiintyy noin 10%:lla sairastuneista. MS-taudin diagnoosi perustuu tällä hetkellä McDonaldin vuonna 2010 tarkastettuihin kriteereihin, jotka ottavat huomioon sekä kliiniset oireet että magneettikuvalöydökset (1). Käytössä olevassa diagnostiikassa magneettikuvauksessa käytetään T1-, T2-painotteista, tai FLAIR- kuvaussekvenssiä varjoaineella tai ilman (2). Näillä menetelmillä nähdään MS-taudille tyypilliset keskushermoston rakenteelliset tulehdusmuutokset, joita todetaan kaikissa MS-taudin alatyypeissä ja erityisesti aaltomaisessa MS-taudissa. Primaaris-progressiivinen tautimuoto poikkeaa yleisimmästä aaltomaisesta tautimuodosta siten, että tulehdukselliset patologiset muutokset esiintyvät keskushermostossa hajanaisemmin (3), ja selkeät makroskooppiset muutokset voivat puuttua, jolloin edellä mainittujen perinteisten magneettikuvaustekniikoiden herkkyys voi jäädä riittämättömäksi. Diffuusiopainotteinen magneettikuvaus tarjoaa riittävän herkän menetelmän, jolla myös näitä muutoksia pystytään kuvantamaan. Ensimmäisen kerran tätä menetelmää käytettiin MS-taudin kuvantamisessa vuonna 1992 Larsson et al.:n toimesta (4).

Diffuusiopainotteisista magneettikuvista voidaan kullekin kuva-alkiolle muodostaa sen anisotropiaa kuvaava diffuusiotensori. Erilaisilla hermoratakartoitusmenetelmillä diffuusiotensoreista voidaan muodostaa aivojen makroskooppisten hermoratojen malleja. Näitä malleja voidaan analysoida joko tarkastelemalla tiettyjä, ennalta määriteltäviä rakenteita ja niissä tapahtuvia muutoksia (*Region Of Interest, ROI-menetelmä*) tai vaihtoehtoisesti etsimällä eroja tilastollisin menetelmin koko keskushermoston alueelta.

Tässä työssä käytettiin tilastollista analysointimenetelmää, jolla pyrittiin löytämään aivojen valkeassa aineessa tapahtuvia diffuusioparametrien muutoksia noin viiden vuoden seuranta-ajalta primaaris-progressiivista multippelia skleroosia sairastavilta potilailta. Työssä ei käytetty terveistä tutkittavista koostuvaa vertailuryhmää, vaan analysoitiin seurattavassa joukossa tapahtuvia muutoksia käyttämällä lähtötasona ensimmäistä diffuusiopainotteista magneettikuvaa. Lisäksi

pyrittiin muodostamaan korrelaatio MS-tautia sairastavien potilaiden toimintakykyä kuvaavan EDSS-asteikon ja diffuusioparametrien välillä. Olemassa olevan tutkimusnäytön mukaan (5,6) vastaavaa tutkimusta yhtä pitkällä seuranta-ajalla ei ole aiemmin tehty.

1.1 Multippeliskleroosi

MS-tauti eli multippeliskleroosi on keskushermoston autoimmuunisairaus, jonka oireet aiheutuvat joko suoranaisesta hermokudoksen vauriosta tai tulehduksellisten välittäjäaineiden vaikutuksesta hermosoluihin tulehduspesäkkeissä tai niiden ympäristössä. Oireet, joihin kuuluu muun muassa raajojen lihasheikkous ja spastisuus, tuntuu puutos, poikkeavat tuntoelämykset tai hermosärky, raajakoordinaation häiriöt ja ataksiat, huimaus, kaksoiskuvat, virtsarakon ja suolen toimintahäiriöt, poikkeava uupumus ja kognitiiviset häiriöt ovat seurausta tulehduspesäkkeiden sijainnista ja kasvusta keskushermostossa. Pesäkkeet sijaitsevat tyypillisesti periventrikulaarisesti, jukstakortikaalisesti, infratentoriaalisesti ja selkäytimessä. (7)

1.1.1 Epidemiologia

Maailmanlaajuisesti MS-taudin prevalenssi kasvaa siirryttäessä päiväntasaajalta kohti napa-alueita. Erityisesti Pohjois-Euroopan kansoilla MS-taudin esiintyvyys on korkea (8). MS-tauti manifestoituu noin 20–35 vuoden iässä, mutta sitä voidaan todeta myös huomattavasti vanhemmillä henkilöillä. MS-tauti on yleisin nuorten aikuisten liikunta- ja toimintakykyyn vaikuttava autoimmuunisairaus ja sitä esiintyy naisilla lähes kaksi kertaa enemmän kuin miehillä. (7,9–12)

Suomessa MS-tautia sairastaa noin 7000, esiintyvyyden koko Suomessa on arvioitu olevan noin 130/100 000 ja ilmaantuvuuden 7/100 000. Taudin esiintyvyys jakautuu Suomessa epätasaisesti; länsiosissa esiintyvyys on suurempi kuin itä- ja eteläosissa (13–18). Ilmaantuvuuden on havaittu tutkimuksissa kasvaneen ja selityksinä tälle on tarjottu parantunutta diagnostiikkaa (15) tai taudille altistavien ympäristötekijöiden muuttumisena (14).

1.1.2 Patofysiologia

MS-tauti voidaan jakaa kahteen päälatyyppiin: yleisempään (80–85 % potilaista), aaltomaiseen relapsoivaan-remittoivaan (RRMS) ja harvinaisempaan, alusta asti tasaisesti etenevään primaaris-progressiiviseen MS-tautiin. RRMS:ssä potilaan tila pysyy vakaana akuuttien pahenemisjaksojen välissä. Usein RRMS muuttuu ajan kuluessa sekundaarisesti progressiiviseksi MS-taudiksi (SPMS), jonka kuluessa potilaan tila heikkenee tasaisesti kuten primaaris-progressiivissa tautimuodossa. MS-taudissa keskushermoston neuronien aksoneja ympäröivää myeliiniä vaurioittaa veri-aivoesteen läpäisseiden mononukleaaristen, autoreaktiivisten valkosolujen välittämä tulehdusreaktio. Tulehdusreaktio synnyttää magneettikuvissa tyypillisesti näkyviä tulehduspesäkkeitä (*plakkeja*). Tulehdusreaktio on sekä solu- että vasta-ainevälitteinen ja myeliinin proteiineja kohtaan suuntautuneita antigeenejä on tunnistettu useita. Autoimmuunihypoteesin mukaan MS-tauti saisi alkunsa lapsuudessa tapahtuvasta keskushermoston antigeenejä tunnistavien lymfosyyttien eliminaatiohäiriöstä tai toleranssin muodostumisen häiriöstä, joka altistaa myöhemmässä elämässä autoimmuunireaktion laukeamiselle sopivissa olosuhteissa (9). Myöhäinen, teini-iässä tai aikuisuudessa sairastettu, oireinen EBV-infektio on yksi paljon tutkittu tekijä MS-taudin etiologian taustalla (19,20). Viitteitä EBV:n osuudesta sairauden etiologiaan on runsaasti, mutta täysin varmaa näyttöä ei vielä ole (19). Normaali väestöstä EBV positiivisia on yli 90 % (19). Eliministö pystyy osin korjaamaan myeliinivaurioita, muttei enää aksonivaurioita. Oireiden kuva riippuu demyelinisaation ja siihen liittyvän inflammaation sijainnista. Esimerkiksi kortikospinaalirataan liittyvät vauriot aiheuttavat motorisen toimintakyvyn laskua. Keskushermoston vauriot aiheuttavat myös kognitiivisen kapasiteetin laskua, erityisesti muistin, toiminnanohjauksen ja tarkkaavaisuuden osalta (9).

Primaarisprogressiivinen MS-tauti eroaa aaltomaisesta MS-taudista siten, että sen ajatellaan etenevän hitaana, kroonisena tulehduksena, joka leviää aiemmin nopeasti syntyneistä plakeista hitaasti, diffuusisti aivojen valkeaan aineeseen. Tulehdusta on havaittu erityisen paljon myös korteksilla. Laaja-alainen tulehdus johtaa aivoatrofiaan, jonka suuruusluokka on noin kymmenkertainen normaaliin ikääntymiseen liittyvään aivojen volyymin pienenemiseen nähden. Mitokondrioiden toimintahäiriö, raudan kertyminen iän mukana ja niistä osin johtuva oksidatiivinen stressi, sekä mikroglian aktivaatio on myös yhdistetty aksonivaurioiden syntyyn.

Tämän hetkinen näkemys on, että sekä PPMS:n että RRMS:n taudinkuvaan liittyy keskushermoston krooninen tulehdus ja neurodegeneraatio. Aaltomaisessa muodossa krooninen tulehdus ja degeneraatio ovat vähäisempiä ja oireita hallitsevat akuutit tulehdukset ja niiden paranemisvaiheet. Primaaris-progressiivisessa taudissa painottuvat kroonisen tulehduksen aiheuttama diffuusi demyelinisaatio ja neurodegeneraatio. RRMS:ssä oireet saattavat paranemisvaiheessa lievittyä tai loppua kokonaan, koska tulehduspesäkkeet aiheuttavat paikallisia vaurioita, jotka keskushermosto kykenee mahdollisesti kompensoimaan muodostamalla uusia tai korjaamalla vaurioituneita yhteyksiä. PPMS:ssä neuronien tuhoutuminen on laajempaa, jolloin keskushermosto ei kykene enää kompensoimaan tuhoutuneita yhteyksiä muodostamalla uusia yhteyksiä tilalle tai korjaamalla vaurioituneita. Ajan mittaan tilanne muuttuu RRMS:ssä PPMS:n kaltaiseksi, jolloin puhutaan sekundaaris-progressiivisesta tautimuodosta. (3)

1.1.3 Etiologia

Multippeliskleroosin tarkkaa patogeneettistä mekanismia ei vielä tunneta, mutta monia tulehduksen osatekijöitä tunnetaan. Etiologia on monitekijäinen ja siihen liittyy sekä perinnöllisiä että ulkoisia vaikuttavia tekijöitä. Ascherio et al:n vuonna 2012 julkaisema katsaus (22) kattaa laajan kirjon mahdollisia tekijöitä, jotka vaikuttavat taudin syntyyn: Ulkoisien tekijöiden ajatellaan olevan vaikuttavampia perustuen MS-taudin esiintyvyyden maantieteelliseen jakautumiseen (korkeammilla leveysasteilla suurempi esiintyvyys) sekä korkean leveysasteen maasta matalamman leveysasteen maahan muuttamisen aiheuttamaan sairastumisriskin vähenemiseen. Perinnölliset riskitekijät liittyvät ainakin immuunijärjestelmän geeneihin, josta tunnetaan useita sairastumisriskiä lisääviä alleleja. Lisäksi tunnetaan myös harvinainen, aktiivisen D-vitamiinin synteesiin liittyvä D-1 α -hydroksylaasi entsyymien geenivariantti, joka lisää sairastumisriskiä. Ulkoisista riskitekijöistä tunnetaan ainakin varhaisaikuisuudessa sairastettu Epstein-Barr-virusinfektio, riittämätön D-vitamiinin saanti ja tupakointi. Tunnettuja riskitekijöitä on esitetty kuvassa 1. Tekijöiden vaikutusmekanismi on suurimmassa osassa tapauksia tuntematon.

Perintötekijöiden vaikutus MS-taudin syntyyn on varmistettu kaksos- ja sisarustutkimuksin, joissa havaittiin monotsygoottisten sikiöiden MS-taudin konkordanssin olevan 25 % ja ditsygoottisten 5 %. (23,24) Lisäksi toisen sisaren sairastama MS-tauti lisää terveen sisaren sairastumisriskiä 20–40-kertaiseksi verrattuna riskiin sairastua, jos lähiomaisista kukaan muu ei ole sairastunut. (25)

Perintötekijät	Ulkoiset tekijät
<u>Immuunijärjestelmään liittyvät alleelit</u> HLADRB1*1501 HLADRB1*0301 HLADRB1*0405 HLADQA1*0301 HLADQB1*0302	Epstein-Barr-virusinfektio D-vitamiinin riittämätön saanti Tupakointi Maantieteellinen sijainti

Kuva 1. MS-taudin tunnettuja riskitekijöitä. Immuunijärjestelmään liittyvien geenien alleelit selittävät 20–60 % MS-taudin periytyvyydestä (26).

Immuunijärjestelmään liittyvistä geeneistä alleeli HLADRB1*1501 lisää voimakkaimmin sairastumisriskiä, nostaen riskin homoalleelisena geeninä kuusinkertaiseksi ja heteroalleelisena geeninä kolminkertaiseksi (27). Alleelia esiintyy maissa joissa MS-taudin esiintyvyys on korkea 14–30 %:lla väestöstä (28). Kuvassa 1 lueteltujen immuunijärjestelmään liittyvien alleelien selittävyys MS-taudin periytyvyydelle on 20–60 % luokkaa (26). Puuttuvia selittäviä geenilokuksia etsitään edelleen. Immuunijärjestelmään liittyvien HLA-geenien löydetty alleelit sopivat hyvin MS-taudin yleiseen autoimmuunikuvaan, mutta alleelien vaikutusmekanismien yksityiskohtia ei vielä tunneta.

Maantieteellisen sijainnin vaikutus multippelin skleroosin esiintyvyyteen on tunnettu jo vuosikymmeniä. Tropiikissa taudin esiintyvyys on pieni ja leveysasteiden kasvaessa sekä pohjoiseen että etelään päin, esiintyvyys pääasiallisesti kasvaa. (29) Tähän sääntöön poikkeuksia aiheuttavat perintötekijöiden vaikutukset, eli pääasiassa HLA-riskialleelien vähäinen tai korkea esiintyvyys populaatioissa. Perintötekijöiden johdosta esimerkiksi pohjoisen inuiiteilla MS-taudin esiintyvyys on pieni, vaikka taudin esiintyvyys pohjoisessa on muuten suuri. (22) Muuttaminen korkean esiintyvyyden alueilta alhaisen esiintyvyyden alueille näyttää alentavan riskiä sairastua multippeliin skleroosiin. Vaikutus on sitä suurempi, mitä nuorempaan muutto tapahtuu. Tämä viittaa siihen, että lapsuuden ympäristön tekijöillä voisi olla merkitystä myöhempään sairastumisriskiin. (30,31)

Epstein-Barr-virus (EBV) aiheuttaa nuorilla ja nuorilla aikuisilla mononukleoosia. Varhaisessa lapsuudessa infekto on yleensä oireeton. Korkean elin- ja hygieniatason maissa EBV-infektio sairastetaan usein myöhemmin kuin kehittyvissä maissa, joissa infekto sairastetaan jo varhaisessa lapsuudessa. Epidemiologisissa tutkimuksissa on havaittu hyvin todennäköinen yhteys EBV-

infektion ja MS-taudin välillä: EBV-infektion sairastaminen on MS-taudin riskitekijä (32) ja lisäksi mononukleoosin sairastaminen lisää sairastumisriskiä 2–3-kertaiseksi (33).

1.2 Diffuusiotensorikuvaus ja diffuusioparametrit

Magneettiresonanssikuvaus perustuu ydinmagneettiseen resonanssiin (34). Yksi lääketieteellisen magneettikuvauksen sovellus on diffuusiopainotteinen magneettikuvaus, jolla voidaan visualisoida ja mitata kvantitatiivisesti pääasiassa vesimolekyylien diffuusioliikkeen suuruutta kudoksissa. Edelleen pidemmälle viety kuvantamistekniikka, joka kehitettiin noin kaksikymmentä vuotta sitten (35), on diffuusiotensorikuvaus, jolla voidaan arvioida paitsi vesimolekyylien diffuusion suuruutta, myös diffuusion suuntaa. Ensimmäinen ihmisen aivojen valkean aineen ratayhteyksiä selvittänyt tutkimus julkaistiin vuonna 1998 (36) ja tällä hetkellä julkaisuja on jo satoja.

Seuraavat kaksi kappaletta perustuvat pääasiassa J.

Hiltusen katsaukseen ”Diffuusiotensorikuvaus

hermoratojen tutkimuksessa” vuodelta 2007 (37). Pääpiirteittäin diffuusiotensorikuvauksen

periaate aivojen valkean aineen ratojen kuvantamisessa on seuraava: vapaassa tilassa

vesimolekyylit diffundoituvat symmetrisesti kaikkiin suuntiin ja se on määritelty isotrooppiseksi

diffuusioksi. Kudoksissa vesimolekyylien liikettä rajoittavat solukalvot, proteiinit, ja muut

molekyylit. Esimerkiksi hermosäiekimpuksa diffuusiota tapahtuu enemmän hermosäiekimpuksen

suuntaisesti kuin sitä vastaan kohtisuoraan suuntaa. Tätä kutsutaan anisotrooppiseksi diffuusioksi.

Periaate on esitetty kuvassa 2. Diffuusiotensorin laskemiseksi yhden kuva-alkion diffuusion

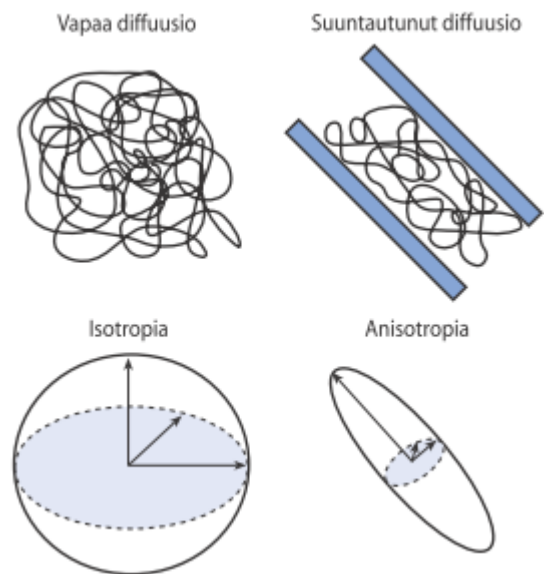
mitataan vähintään kuudessa eri suunnassa. Näiden mittausten avulla voidaan laskea kuva-

alkiokohtaisesti useita diffuusion suuruuteen ja suuntaan liittyviä parametreja.

Diffuusiotensori on diffuusiota kuvaava matemaattinen malli, joka voidaan laskea

diffuusiopainotteisista kuvista kullekin kuva-alkiolle. Diffuusiotensorista muodostetaan

ominaisarvohajotelma, jossa ominaisvektorit ja -arvot kuvaavat diffuusiota kolmessa toisiaan



Kuva 2. Vasemmanpuoleisessa kuvassa on symmetristä vapaata diffuusiota, jolloin tilanne on isotrooppinen. Oikeanpuoleisessa kuvassa hermosäiekimppua demonstroiva rakenne, jossa diffuusio ei ole symmetristä. Tilanne on tällöin anisotrooppinen. Kuva on J. Hiltusen katsauksesta ”Diffuusiotensorikuvaus hermoratojen tutkimuksessa” (34).

vastaan kohtisuorassa suunnassa. Pääominaisvektorin katsotaan olevan se vektori, jonka pituus on suurin. Tyypillisesti myös hermosäiekin pun oletetaan kulkevan tämän vektorin suuntaisesti. Näistä kolmesta vektorista johdetaan diffuusioparametrit. Fraktionaalinen anisotropia (*Fractional Anisotropy, FA*) lasketaan ominaisvektoreiden avulla ja se kuvaa diffuusion suuntautuneisuutta asteikolla 0–1, missä nolla kuvaa täydellisen isotrooppista ja yksi täydellisen anisotrooppista tilaa. Kvantitatiivinen diffuusiokerroin (*Apparent Diffusion Coefficient, ADC*) on ainoastaan diffuusion suuruutta kuvaava suure ilman suuntaa. Aksiaalinen diffuusio (*Axial Diffusion, AD*) ja radiaalinen diffuusio (*Radial diffusion, RD*) kuvaavat diffuusion suuruutta pääominaisvektorin ja sitä vastaan kohtisuoran suunnan suhteen. Pienentyneet fraktionaalisen anisotropian arvot ovat aivojen valkeaa ainetta tutkittaessa yhdistetty aksonivaurioon, samoin kuin kvantitatiivisen diffuusiokertoimen nousu (38). Tässä työssä käytetty kuvausresoluutio ei mahdollistanut yksittäisten hermosäikeiden diffuusio-ominaisuuksien tutkimista vaan ainoastaan makroskooppisten hermosäiekin ppujen diffuusio-ominaisuudet voitiin laskea.

1.3 FSL-ohjelmistokirjasto

Diffuusiomagneettikuvien analysointiin käytettiin Oxfordin yliopiston FMRIB-ryhmän (*Functional MRI of the Brain*) kehittämää, Linux-ympäristössä toimivaa, FSL-ohjelmistokirjastoa (39–41). Kirjasto on kokoelma magneettikuvien käsittelyyn ja analysointiin tarkoitettuja työkaluja, joista tämän työn kannalta keskeisin on diffuusiokuvien ryhmävertailutyökalu (*Tract Based Spatial Statistics, TBSS*). TBSS-analyysityökalun avulla voidaan vertailla ryhmien välisiä eroja koko kuvamatriisin alueelta. Työkalu luo jokaisesta diffuusiotensorikuvasta lasketusta keskushermoston FA-kartasta makroskooppisten hermoratojen perusmallin, joka vastaa hermosäiekin ppujen sijaintia ja kulkua, sekä sisältää tiedon kunkin hermosäiekin pun maksimi FA-arvosta. Tämän jälkeen kukin yksittäinen kuva sovitetaan yhteen, koko joukkoa kuvaavaan perusmalliin, jota voidaan vertailla toisiin joukkoihin ja etsiä niiden välisiä tilastollisesti merkitseviä eroja. Muita kirjaston työkaluja käydään oleellisilta osin läpi menetelmät-osion yhteydessä. Yksityiskohtainen kuvaus valkean aineen hermoratakartoituksen prosessista FSL-kirjaston työkaluja käyttäen on kuvattu diplomi-insinööri Tero Ilvesmäen opinnäytetyössä *Neural Tract Analysis; A Software Implementation* (42).

1.4 MS-tautipotilaan toimintakykyä kuvaavat asteikot

MS-tauti-potilaiden toimintakykyä kuvaavia asteikoita ovat muun muassa EDSS-asteikko (43) ja MSFC-asteikko (44) (*Multiple Sclerosis Functional Composite*). EDSS-asteikko on pääasiassa lääkäreiden käyttämä potilaan toimintakykyä kuvaava asteikko välillä 0–10. Asteikko arvioi pääasiassa jalkojen toimintakykyä siten, että luokituksen ollessa välillä 0–5 potilas kykenee vielä liikkumaan, mutta käytännössä tästä ylöspäin liikkuminen vaatii tukitoimia. MSFC-asteikko arvioi erikseen käsien ja jalkojen toiminnan, sekä myös kognitiivisen tason.

1.5 Kirjallisuuskatsaus

Kirjallisuusselvityksen perusteella seurantatutkimuksia, joissa PPMS:n etenemistä on tutkittu diffuusioparametrien kautta, löytyi niukasti; Harrison et al.:n vuonna 2011 julkaisemassa tutkimuksessa (5) seurattiin 14 potilasta 0,8–3,3 vuotta, seuranta-ajan keskiarvo oli 1,8 vuotta. Kuvauskertoja seuranta-aikana oli keskimäärin 3,5 kertaa siten, että kuvat otettiin alussa, kuuden kuukauden, 12 kuukauden ja siitä eteenpäin vuoden välein. Schmierer et al.:n vuonna 2004 julkaisemassa tutkimuksessa (6) seurattiin 15 potilasta ja kuutta tervettä verrokkia vuoden ajan. Kuvauskertoja oli kaksi; tutkimuksen alussa ja vuoden päästä ensimmäisestä kuvasta.

Harrison et al.:n tutkimuksessa PPMS:ää sairastavilla seurannan aikaisia merkittävimpiä muutoksia diffuusioparametreissa havaittiin FA:n osalta näköradan sädekimpun alueilla ja AD:n osalta supratentoriaalisella aivoalueella ja aivokurkiaisen alueilla. Muutokset ilmoitettiin vuotuisena muutosnopeutena ja tilastollinen merkitsevyystaso oli $p < 0,05$. Fraktionaalista anisotropiaa tarkasteltaessa muutos oli -1,2 per vuosi (vaihteluväli -2,1–(-0,3)), aksiaaliselle diffuusiolle vastaavat arvot olivat supratentoriaalisella alueella $0,1 \mu\text{m}^2/\text{ms}$ (vaihteluväli -0,2–0,4) ja aivokurkiaisen alueella $0,1 \mu\text{m}^2/\text{ms}$ (vaihteluväli -0,8–1). Harrison et al.:n tutkimuksessa ei ollut vertailuryhmää, joten havaittujen muutosten liittyminen PPMS:n etenemiseen jäi osittain avoimeksi.

Schmierer et al.:n tutkimuksessa havaittiin ADC:n kasvaneen vuoden kuluessa PPMS potilailla enemmän kuin verrokeilla. Muutoksia havaittiin valkeassa aineessa otsalohkon, parietaalilohkon, okkipitaalilohkon, pikkuaivojen ja talamuksen osalta. Erot verrokkiryhmään edellä mainituissa keskushermostoalueissa olivat $2 \mu\text{m}^2/\text{s}$, $1,8 \mu\text{m}^2/\text{s}$, $2,6 \mu\text{m}^2/\text{s}$, $1,7 \mu\text{m}^2/\text{s}$ ja $1,3 \mu\text{m}^2/\text{s}$. Ainoastaan talamuksen osalta tulos ei ollut tilastollisesti merkitsevä. Tässä työssä löydettiin ADC:n nousun ja MS-potilaan toimintakykyä kuvaavan MSFC-asteikon välillä tilastollisesti merkitsevä korrelaatio. ADC:n muutosten ja MS-potilaan toimintakykyä kuvaavan EDDS-asteikon välillä ei löytynyt tilastollisesti merkitsevää korrelaatiota.

2 Aineisto ja menetelmät

2.1 Aineisto

Aineistona käytettiin noin viiden vuoden seurannan aikana kerättyjä diffuusiopainotteisia aivojen magneettikuvia PPMS:ää sairastavista potilaista. Kuvat analysointiin FLS-kirjaston työkalujen avulla, joilla suoritettiin kuvien esikäsittely, diffuusiotensorilaskenta ja TBSS-analyysi. Koeasetelma oli yhdelle tutkittavien ryhmälle tehty toistomittaus, jossa kukin tutkittava toimi omana verrokkinaan. Vertailukuvana käytettiin ensimmäistä tutkittavasta otettua diffuusiokuvaa. Tilastollinen analyysi toteutettiin FSL-ohjeistossa kuvatulla kahden riippuvan otoksen T-testillä (45).

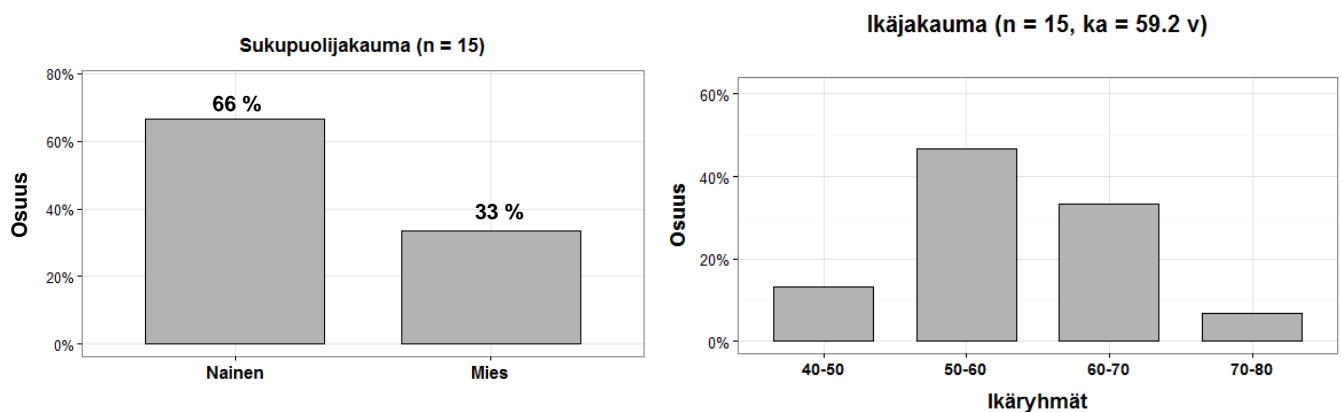
2.1.1 Tutkimuspopulaatio

Tutkimusaineistona käytetään MS-tiede projektin R05157 potilasaineistoa, joka käsitti noin sata potilasta, joilla esiintyi MS-taudin eri alatyyppejä ja joita seurattiin noin viiden vuoden ajan. Seurannan aikana potilaat tutkittiin viisi kertaa, noin yksi kerta per vuosi. Tutkimukset suoritettiin Tampereen Yliopistollisessa Sairaalassa aikavälillä 2006–2012. Jokaisella tutkimuskerralla potilailta otettiin verinäyte ja tehtiin kliininen tutkimus, jossa arvioitiin potilaan EDSS-asteikon mukainen toimintakyky. Lisäksi jokaiselta tutkittavalta otettiin pään alueen diffuusiopainotteiset magneettikuvat tutkimuskerroilla 1, 2, 3 ja 5, yhteensä neljä kuvauskertaa. Sadan potilaan aineistossa oli 20 potilasta, jotka sairastavat MS-taudin primaarisprogressiivista alatyyppeä. Kahdenkymmenen potilaan aineistosta yksi karsiutui pois, koska magneettikuvien tallennusmuoto oli poikkeava, eikä niiden muuntaminen yhteensopivaksi muiden kuvien kanssa onnistunut. Jäljelle jääneistä 19 potilaasta 15 potilaalle löytyi vähintään kaksi peräkkäistä magneettikuvaussarjaa, joka oli välttämätön ehto vertailevan analyysin toteuttamiselle. Näistä 15 potilaasta 11 potilaalle oli tehty kaikki neljä seuranta-ajan diffuusiomagneettikuvausta. Valittu potilasaineisto jaettiin kuvausajankohdan mukaan vuosiryhmiin siten, että ensimmäisen vuosiryhmän muodostivat

kaikkien tutkittavien ensimmäisen kuvauskerran diffuusiomagneettikuvat, toisen vuosiryhmän seuraavat kuvat ja niin edelleen. Ensimmäisen vuoden kuvia käytettiin vertailuryhmänä, joihin myöhemmin otettuja kuvia verrattiin.

2.1.2 Demografiset tiedot

Taulukossa 1 on esitetty tutkimusaineiston demografisia ja taudinkulkuun liittyviä parametreja. Potilaiden keski-ikä oli tutkimuksen alkaessa 59,2 vuotta ja keskimääräinen aika ensioireista 20,4 vuotta. Keskimääräinen EDSS-arvo tutkimuksen alkaessa oli 4,9 ja lopussa 5,1. Keskimääräinen aika ensioireista tutkimuksen alkuun oli noin 20,4 vuotta ja keskimääräinen aika PPMS diagnoosista tutkimuksen alkuun oli noin 14,2 vuotta. Tutkittavilla ei ollut säännöllistä lääkitystä MS-taudin hoitoon. Muita sairauksia, joihin potilailla oli lääkitystä, olivat hypotyreoosi, osteoporoosi, migreeni, eteisvärinä, hypertensio, glaukooma ja astma. Sukupuolijakauma ja ikäryhmien jakauma on esitetty kuvassa 3.



Kuva 3. Tutkimuspopulaation ikä- ja sukupuolijakauma.

Taulukko 1. Potilasaineiston demografisia ja kliinisiä tietoja

ID (n = 15)	Suku- puoli	Ikä	Aika ensioireista tutkimuksen alkuun [kk]	Aika diagnoosista tutkimuksen alkuun [kk]	EDSS				
					1. vuosi	2. vuosi	3. vuosi	4. vuosi	5. vuosi
R05157BM48	M	54	149	122	4	4	4	4	4
R05157BM50	N	67	14	12	1	1	1,5	1,5	1,5
R05157BM70	M	58	249	212	3	3	3	3	3
R05157BM96	N	61	194	138	5	6	6	6	6
R05157BM99	N	48	172	116	6	6	6,5	6,5	NA
R05157BM89	N	65	504	288	4	4	4	4	6
R05157BM82	N	54	191	86	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
R05157BM62	N	56	68	25	6	6,5	6,5	6,5	7
R05157BM36	M	59	350	290	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
R05157BM87	N	59	192	180	6	6,5	7	7	7
R05157BM91	M	54	230	182	7	7	7	7	7
R05157BM95	N	68	314	314	5,5	6	6	6	NA
R05157BM92	N	45	182	170	2	1,5	1,5	1,5	2
R05157BM100	N	73	568	304	5	5	6	NA	NA
R05157BM93	M	67	292	170	6	6,5	6,5	6,5	NA
keskiarvo		59,2	244,6	173,9	4,9	5,1	5,2	5,2	5,1

2.1.3 Diffuusiomagneettikuvat

Pään alueen diffuusiomagneettikuvat otettiin 1,5 Teslan magneettikuvauslaitteella (*Siemens Avanto, Erlangen, Saksa*). Tutkimusprotokolla ja –parametrit olivat jokaisella kuvauskerralla samat; kuvausjaksojen toistojen välinen aika (*TR*) 3500 ms, virityspulssin ja signaalinkeräämisen välinen aika (*TE*) 96 ms, näkökenttä 230 x 230 mm, tallennusmatriisin koko 128 x 128 pikseliä, keskiarvoistus 3 kuvaa, siivun paksuus/siivujen väli 5,0/1,5 mm, vokselin ulottuvuudet 1,8 x 1,8 x 5,0 mm, diffuusiopainotuskertoimina käytettiin arvoja 0 ja 1000 s/mm² ja diffuusiogradienttisuuntia 12 kappaletta.

Ensimmäisen ja toisen kuvauskerran aikaväli oli keskimäärin 12 kuukautta, ensimmäisen ja kolmannen kuvauskerran aikaväli 26 kk ja ensimmäisen ja viimeisen aikaväli 52 kk. Ensimmäisenä, toisena ja kolmantena kuvauskertana yksikään tähän analyysiin valituista potilaista ei ollut tippunut seurannasta. Viimeisellä kuvauskerralla neljä potilasta oli pudonnut seurannasta tuntemattomista syistä. Kokonaisuudessaan kuvauskertoja kertyi 56 kappaletta neljästä eri

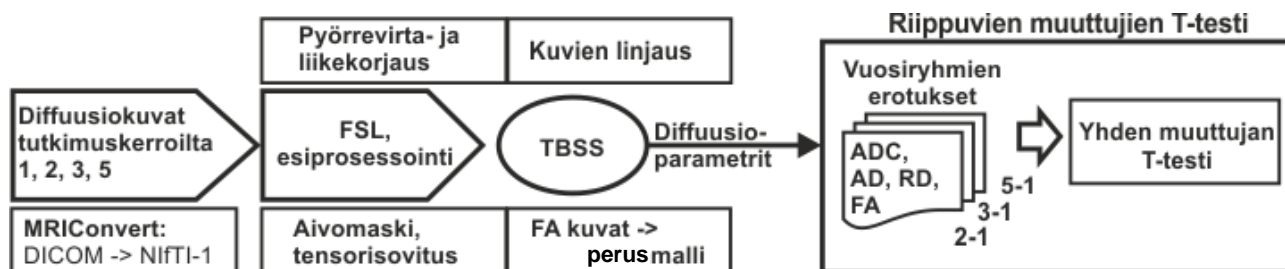
kuvauskerrasta noin 5 vuoden aikana. Taulukossa 2 on esitetty kuvausajankohdat ja potilasmäärät kustakin kuvauskerrasta.

Taulukko 2. Diffuusiomagneettitutkimusten ajankohdat ja tutkittavien vuosittainen lukumäärä. Kokonaisuudessaan kuvauskertoja oli 56 kappaletta.

ID	1. vuosi N = 15	2. vuosi N = 15	3. vuosi N = 15	5. vuosi N = 11
R05157BM48	21.11.2006	28.11.2007	19.11.2008	30.3.2011
R05157BM50	19.11.2006	20.2.2008	3.3.2009	18.5.2011
R05157BM70	14.3.2007	3.6.2008	7.10.2009	27.12.2011
R05157BM96	29.8.2007	19.8.2008	4.11.2009	29.2.2012
R05157BM99	3.10.2007	2.9.2008	16.12.2009	NA
R05157BM89	20.6.2007	17.6.2008	15.9.2009	13.12.2011
R05157BM82	2.5.2007	10.6.2008	19.8.2009	6.10.2010
R05157BM62	14.2.2007	22.4.2008	6.5.2009	14.9.2011
R05157BM36	1.11.2006	12.3.2008	17.3.2009	16.3.2011
R05157BM87	6.6.2007	11.6.2008	7.10.2009	7.12.2011
R05157BM91	8.8.2007	12.8.2008	29.9.2009	21.12.2011
R05157BM95	29.8.2007	20.8.2008	27.10.2009	NA
R05157BM92	8.8.2007	21.5.2008	9.6.2009	23.11.2011
R05157BM100	17.10.2007	27.8.2008	27.10.2009	NA
R05157BM93	22.8.2007	20.8.2008	21.10.2009	NA

2.2 Menetelmät

Kuvassa 4 on esitetty prosessikaavio, jonka mukaan tässä työssä käytetyt diffuusiomagneettikuvat prosessoitiin ja diffuusioparametrit analysoitiin. Analyysin tavoitteena oli tuottaa diffuusiomagneettikuvista jokaisen potilaan aivojen valkeaa ainetta kuvaavien makroskooppisten hermoratojen FA-kartoista perusmalli siten, että vuosiryhmien keskinäinen tilastollinen vertailu mahdollistuisi. Analysointiprosessi toteutettiin pääpiirteittäin kuvan 4 mukaisesti.



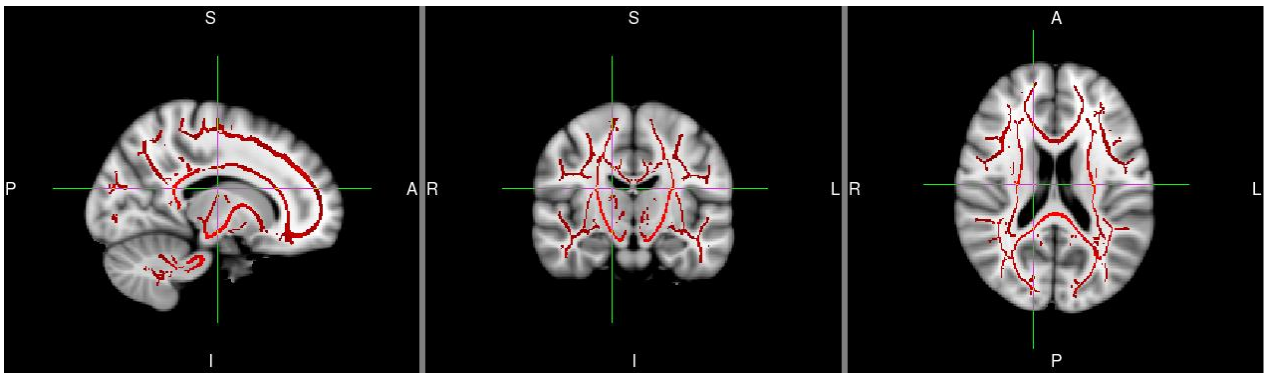
Kuva 4. Diffuusiomagneettikuvien analysointiprosessi. TBSS = Tract based spatial statistics (yksi FSL-kirjaston ohjelmistotyökaluista), ADC = kvantitatiivinen diffuusiokerroin, AD = aksiaalinen diffuusio, RD = radiaalinen diffuusio, FA = fraktionaalinen anisotropia.

2.2.1 Magneettikuvien esikäsittely

Diffuusiopainotteiset magneettikuvat kopioitiin työasemalle, jolla kuvien analysointi oli tarkoitus suorittaa, TAYS:n PACS-kuvatietokannasta. Kuvat olivat DICOM standardin (46) mukaisessa formaatissa. Kuvat konvertoitiin ensin FSL ohjelmistokirjaston käyttämään NIfTI-1 (47) muotoon MRIConvert-ohjelmalla (48). Seuraavaksi kuvat esikäsiteltiin ajamalla FSL ohjelmistokirjastoon sisältyvät pyörrevirta- ja liikekorjaus-ohjelma (*Eddy Current Correction*) (49), sekä aivojen ulkoisten rakenteiden poisto-ohjelma (*Brain Extraction Tool*) (50). Ennen hermoratakartoitusta jokaisen kuvan kuva-alkioihin liitettiin vielä magneettikuvien sisältämän diffuusiotiedon pohjalta laskettu diffuusiotensori-informaatio (*DTIFit*) (49).

2.2.2 Hermoratakartoitus

Hermoratojen kartoitukseen käytettiin TBSS-työkalua. Alkuvaiheessa tarkastettiin apulaisfyysikko Tero Ilvesmäen kanssa, että kaikki esiprosessoidut kuvat olivat silmämääräisesti kunnossa, eivätkä käytetyt kuvankäsittelyalgoritmit olleet korruptoineet kuvia. TBSS-analyysissä kaikki kuvat linjattiin ensimmäiseksi affiini-, ja epälineaarisen kohdistuksen avulla keskenään siten, että kuvia voitiin analysoida joukkona, kuitenkin säilyttäen kuvien alkuperäinen rakenteellinen topografia (49). TBSS muuntaa kohdistusvaiheessa kuvat MNI (Montreal Neurological Institute) 152 1 x 1 x 1 mm standardi-avaruuteen analyysin ja vertailun helpottamiseksi. Tämän jälkeen kunkin potilaan kaikista magneettikuvista laskettiin diffuusiotensoreista johdettujen fraktionaalisten anisotropiakarttojen avulla aivojen makroskooppisia valkean aineen hermoratoja kuvaava perusmalli. Hermoratakartoituksen tuloksena saatiin sekä malli kunkin potilaan makroskooppisista valkean aineen radoista, että kuhunkin kuva-alkioon liittyvät diffuusiota kuvaavat kvantitatiiviset parametrit (*FA*, *ADC*, *AD*, *RD*). Esimerkki yhden tutkittavan hermoratakartoituksen tuloksesta on esitetty kuvassa 5.



Kuva 5. Hermoratakartoituksen avulla laskettu aivojen valkean aineen makroskooppisten hermoratojen FA-kartta. Aivojen standardimallina käytettiin FSL-kirjaston MNI 152-standardimallia 1 mm:n resoluutiolla.

2.2.3 Diffuusioparametrien tilastollinen analyysi

FSL-kirjastoon kuuluva permutaatiotyökalu *Randomise* kykeni käsittelemään tilastollisesti ajallisesti toistettuja mittauksia ainoastaan rajatuilla tavoilla, mikä ohjasi osaltaan sopivan tilastollisen menetelmän valintaa. Koska tässä työssä kukin potilas toimi omana verrokkinaan, diffuusioparametrien muutoksia seurannan aikana päädyttiin arvioimaan kaksisuuntaisella riippuvien otosten T-testillä. Otoskoko oli pieni (maksimissaan 15, pienimmillään 11), joten testattavien muuttujien tai niiden erotusten täytyy olla likimain normaalisti jakautunut, muutoin keskiarvojen laskeminen ei ole mielekäästä. Muuttujien normaalisuutta arvioitiin seuraavasti: perusmallien kukin kuva-alkio sisälsi diffuusioparametrien arvot, joista laskettiin kullekin potilaalle yksi diffuusioparametrin muutosta kuvaava keskiarvo käyttäen FSL-kirjaston *Fs/stats*-työkalua. Diffuusioparametrien keskiarvojen joukko analysoitiin *R*-ohjelmiston (51) Shapiro-Wilks-testillä ja lisäksi niistä piirrettiin Q-Q-kuvaajat. Testien perusteella suurin osa muuttujista ei täyttänyt normaalisuuden kriteerejä, mutta tarkasteltaessa vuosiryhmien välisiä keskiarvojen erotuksia, todettiin kaikkien muuttujien erotusten toteuttavan normaalijakauman ehdot. Näin ollen valittu tilastollinen tarkastelumenetelmä oli validi.

Riippuvien otosten T-testi suoritettiin kahdessa osassa. Kunkin tutkittavan ensimmäinen diffuusiomagneettikuva toimi vertailutasona, johon seuraavien tutkimuskertojen kuvia verrattiin. Aluksi suoritettiin kunkin potilaan kohdalla erotuskuvien laskenta FSL-ohjelmistokirjaston *Fslmaths*-työkalun avulla. Erotuskuvat laskettiin vähentämällä esimerkiksi kunkin tutkittavan 2. vuoden kuvista lasketun perusmallin arvoista 1. vuoden arvot. Koska analyysin tässä vaiheessa ei

ollut vielä tietoa, ovatko erotukset positiivisia vai negatiivisia, muodostettiin erotukset molempiin suuntiin. Kaikki vuosiryhmien erotukset, jotka tässä vaiheessa kullekin potilaalle laskettiin, olivat positiivista muutosta kuvaavat erotukset 2-1, 3-1, 5-1 ja negatiivista muutosta kuvaavat erotukset 1-2, 1-3 ja 1-5. Erotuslaskenta tehtiin kaikille diffuusioparametreille erikseen. Kun kaikkien tutkittavien erotuskuvat olivat valmiita, ne yhdistettiin yhdeksi 4D-kuvasarjaksi FSL-kirjaston *Fslmerge*-työkalua käyttäen.

Toisessa osassa 4D-kuvasarjoille tehtiin yhden muuttujan T-testi, jossa tarkastettiin, poikkeavatko ryhmien keskiarvojen erotukset nolasta. Nollahypoteesi oli, että diffuusioparametrien keskiarvojen erotus vuosiryhmien välillä on nolla. Yhden muuttujan T-testi tehtiin käyttäen FSL-kirjaston *Randomise*-permutaatiotyökalua (52). Koska kyseessä oli monivertailutestaus tilanne (vertailu pareittain useana eri ajanhetkenä, kussakin kuvassa paljon vertailtavia kuva-alkioita) ja otoskoko oli pieni, valittiin tulosten tarkastelussa merkitsevyystasoksi $p \leq 0,05$ sekä käytettiin Bonferroni-korjattuja p-arvoja tyyppin I virheen todennäköisyyden pienentämiseksi.

T-testien tuloksena saatiin ensimmäisestä kuvauskerrasta poikkeavien diffuusioparametrien valkean aineen hermoratojen perusmalli kullekin potilaalle eri merkitsevyystasoilla. Merkitsevyystasot sisältävästä perusmallista päästiin diffuusioparametrien kvantitatiivisiin arvoihin binarisoimalla merkitsevyystasot sisältävä perusmalli ja kertomalla näin saadulla maskilla kaikkien potilaiden kuvauskertojen väliset, diffuusioparametrien erotukset sisältävät perusmallit. Tähän käytettiin FSL-kirjaston *Fslmaths*-työkalua. Lopputuloksena saatiin kustakin tutkittavasta tilastollisesti merkitsevien kuva-alkioiden sisältämä kvantitatiivinen diffuusioparametrien muutostieto kaikista vuosiryhmistä.

Perusmalleille tehtiin myös lohkoanalyysi, jolla pyrittiin selvittämään tilastollisesti merkittävien muutosten sijainti ja jakautuminen aivojen eri rakenteisiin, sekä tilastollisesti merkitsevimmän muutoksen paikkakoordinaatit. Tähän käytettiin FSL-kirjaston *Autoaq*-työkalua. Työkalu vaati paikkatietoa varten aivojen kartastoa, joita FSL-kirjastossa oli oletusarvoisesti useita. Kokeilujen jälkeen päädyttiin käyttämään supratentoriaalisen valkean aineen osalta *Harvard-Oxford*

Subcortical Atlas- ja pikkuaivojen osalta *Cerebellar Atlas in MNI152 space after normalization with FLIRT*-kartastoa, jotka sopivat analysoitujen kuvien sisältämien muutosten sijaintien kuvaamiseen.

2.2.4 Diffuusioparametrien ja EDSS-asteikon korrelaatioanalyysi

Korrelaatioanalyysissä tutkittiin sekä potilaiden EDSS-arvojen ja diffuusioparametrien välistä korrelaatiota, että EDSS-arvojen ja diffuusioparametrien muutosten välistä korrelaatiota. Korrelaatio-analyysiä varten kunkin potilaan kuvauskertoja vastaavat EDSS-arvot ja diffuusioparametrien keskiarvot taulukoitiin. Muuttujien normalisuus arvioitiin jälleen *R*-ohjelmiston Shapiro-Wilks-testin ja Q-Q-kuvaajien avulla; kaikki diffuusioparametrimuuttujat olivat normaalijakautuneita, mutta EDSS-muuttujan jakauma oli kaksihuippuinen. Tästä johtuen korrelaatiokertoimien laskennassa käytettiin parametrissa Spearmanin korrelaatiotestiä.

3 Tulokset

Tulosten tarkastelussa päädyttiin esittämään kunkin potilaan kaikkien valkean aineen ratojen perusmallin kuva-alkioiden sisältämästä diffuusioparametri-informaatiosta yksi parametrimuutosta kuvaava keskiarvo.

3.1 Diffuusioparametrien muutokset

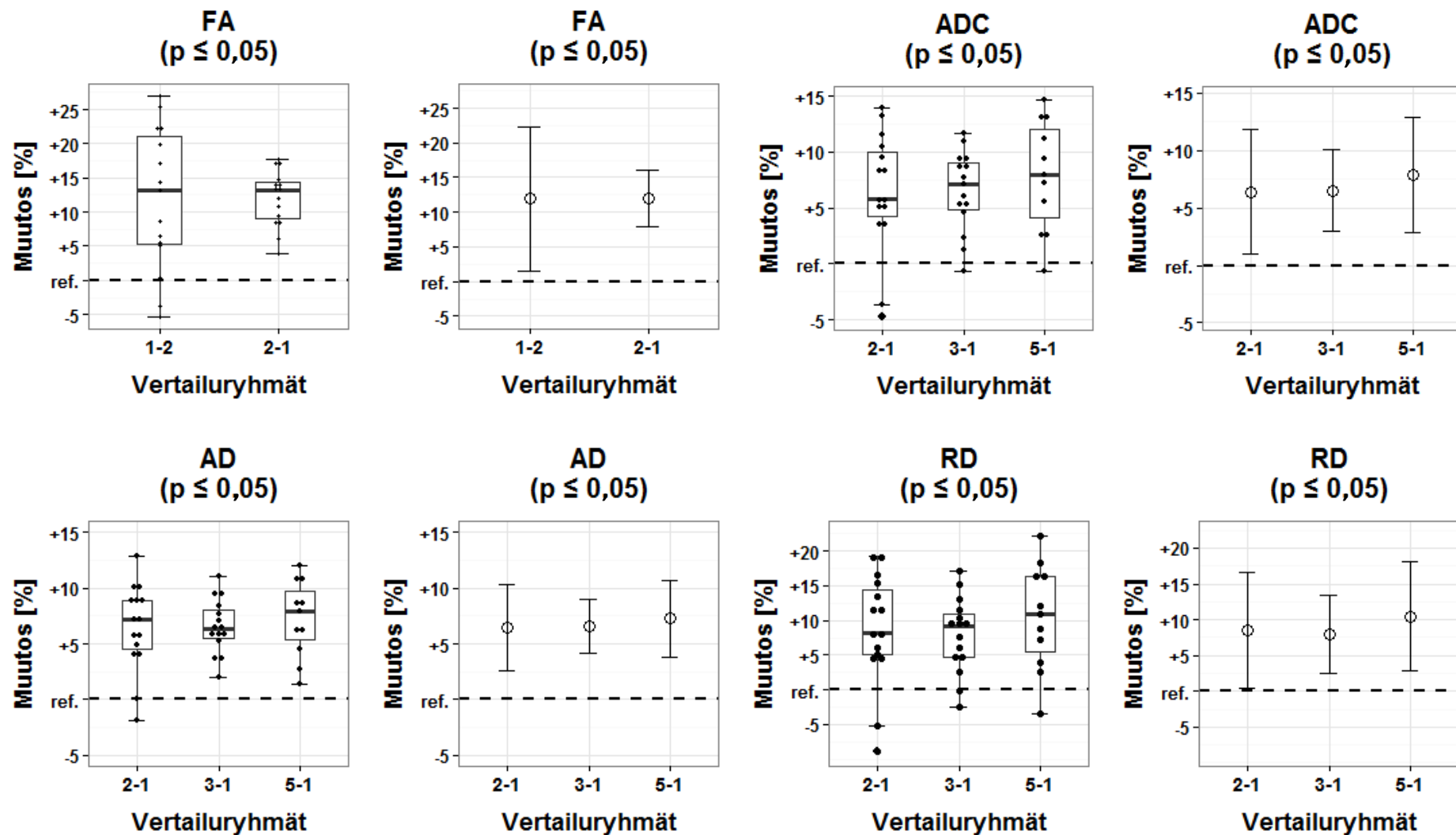
Taulukossa 3 on esitetty kaikkien vertailuryhmien muutosten mediaanit ja keskiarvot. Sulkeissa on esitetty vastaavat suhteelliset muutokset. Vuosiryhmien välillä suhteelliset keskiarvojen muutokset vaihtelivat seuraavasti: FA -11,9–12,0 %, ADC 7,0–8,8 %, AD +6,9–8,7 %, RD 8,9–13,8 %. Keskihajonta tuloksissa oli suuri. ADC:n ja AD:n osalta keskimääräiset muutokset kasvoivat hieman seurannan edetessä. Vertailuryhmien 2-1 ja 5-1 välisenä kolmen vuoden aikana muutosnopeus oli ADC:n osalta 0,5 %/vuosi, AD:n osalta 0,26 %/vuosi. RD:n osalta havaittiin seuranta-aikana sekä laskua että nousua. Taulukossa 4 on esitetty potilaskohtaiset diffuusioparametrien muutokset. Kuvassa 6 on esitetty laatikkodiagrammit ja keskiarvo–keskihajonta-kuvaajat suhteellisten parametrien muutoksista.

Taulukko 3. Ryhmäkohtaiset absoluuttiset diffuusioparametrien muutosten keskiarvot vertailtaessa vuosiryhmien erotuksina. Ensimmäisen kuvauskerran arvoja käytettiin vertailutasona. L.v. = luottamusväli.

Diffuusioparametrit (p ≤ 0,05)	Vertailuryhmät	N	Min,	1. kvartiili	Mediaani	3. kvartiili	Max	Keskiarvo (%)	Keskihajonta (95 % L.v.)
ADC [mm ² /s]	2-1	15	-3,40E-05	3,40E-05	4,50E-05	8,00E-05	1,01E-04	4,93E-05 (6,3)	4,05E-05
	3-1	15	-5,00E-06	3,70E-05	5,20E-05	6,95E-05	9,10E-05	4,97E-05 (6,5)	2,74E-05
	5-1	11	-5,00E-06	3,10E-05	6,30E-05	8,90E-05	1,05E-04	5,90E-05 (7,8)	3,63E-05
AD [mm ² /s]	2-1	15	-2,10E-05	5,30E-05	8,50E-05	1,04E-04	1,45E-04	7,47E-05 (6,5)	4,43E-05
	3-1	15	2,20E-05	6,40E-05	7,40E-05	9,10E-05	1,30E-04	7,57E-05 (6,6)	2,82E-05
	5-1	11	1,60E-05	6,00E-05	9,10E-05	1,09E-04	1,32E-04	8,20E-05 (7,3)	3,77E-05
RD [mm ² /s]	2-1	15	-4,70E-05	2,95E-05	5,20E-05	8,70E-05	1,08E-04	4,96E-05 (8,5)	4,47E-05
	3-1	15	-1,30E-05	2,70E-05	4,90E-05	6,60E-05	9,50E-05	4,49E-05 (8,0)	3,05E-05
	5-1	11	-2,00E-05	3,10E-05	6,60E-05	8,90E-05	1,14E-04	5,80E-05 (10,4)	4,06E-05
FA	1-2	15	-2,76E-02	2,75E-02	7,52E-02	1,09E-01	1,31E-01	6,05E-02 (11,9)	5,29E-02
	2-1	15	1,53E-02	3,53E-02	4,73E-02	5,83E-02	7,33E-02	4,81E-02 (12,0)	1,72E-02

Taulukko 4. Potilaskohtaiset diffuusioparametrien muutosten keskiarvot vertailtaessa kuvauskertojen erotuksia. Ensimmäisen kuvauskerran arvoja käytettiin vertailutasona. FA:n osalta havaittiin sekä arvojen laskua (1-2) että nousua (2-1). Muiden parametrien osalta ainoastaan arvojen nousua. Sulkeissa on esitetty suhteelliset muutokset. ADC = kvantitatiivinen diffuusiokerroin, AD = aksiaalinen diffuusio, RD = radiaalinen diffuusio, FA = fraktionaalinen anisotropia.

ID (N = 15)	<u>ADC [mm²/s] (%)</u>			<u>AD [mm²/s] (%)</u>			<u>RD [mm²/s] (%)</u>			<u>FA (%)</u>	
	2-1	3-1	5-1	2-1	3-1	5-1	2-1	3-1	5-1	1-2	2-1
R05157BM48	1,00E-04 (13)	7,10E-05 (10)	1,00E-04 (13)	1,13E-04 (10)	9,60E-05 (8)	1,24E-04 (11)	1,08E-04 (19)	8,30E-05 (15)	1,01E-04 (18)	7,52E-02 (13)	6,83E-02 (17)
R05157BM50	8,00E-05 (11)	8,30E-05 (11)	5,50E-05 (7)	1,02E-04 (9)	7,00E-05 (6)	9,10E-05 (8)	8,60E-05 (15)	9,50E-05 (17)	4,90E-05 (9)	1,10E-01 (20)	4,35E-02 (11)
R05157BM70	4,00E-05 (5)	3,70E-05 (5)	2,00E-05 (2)	6,70E-05 (6)	6,20E-05 (5)	1,60E-05 (1)	4,00E-05 (6)	3,10E-05 (5)	2,40E-05 (4)	3,62E-02 (9)	5,65E-02 (13)
R05157BM96	6,30E-05 (8)	5,20E-05 (7)	8,30E-05 (11)	1,01E-04 (9)	6,80E-05 (6)	9,50E-05 (9)	6,10E-05 (11)	4,90E-05 (9)	8,80E-05 (16)	9,07E-02 (17)	7,06E-02 (18)
R05157BM99	1,01E-04 (14)	5,50E-05 (8)	NA	1,45E-04 (13)	8,00E-05 (7)	NA	9,60E-05 (19)	5,20E-05 (10)	NA	8,05E-02 (14)	5,70E-02 (13)
R05157BM89	4,50E-05 (6)	6,60E-05 (9)	-5,00E-06 (-1)	4,70E-05 (4)	7,60E-05 (7)	3,10E-05 (3)	4,60E-05 (8)	6,70E-05 (12)	-2,00E-05 (-3)	2,74E-02 (6)	1,53E-02 (4)
R05157BM82	-2,80E-05 (-4)	9,00E-06 (1)	7,10E-05 (9)	-2,10E-05 (-2)	4,50E-05 (4)	9,90E-05 (9)	-2,90E-05 (-5)	-1,00E-06 (0)	6,80E-05 (12)	2,01E-03 (0)	3,24E-02 (9)
R05157BM62	4,50E-05 (5)	4,20E-05 (5)	6,30E-05 (8)	5,90E-05 (5)	7,40E-05 (6)	7,30E-05 (6)	5,20E-05 (8)	3,60E-05 (6)	6,60E-05 (11)	1,10E-01 (25)	3,18E-02 (8)
R05157BM36	-3,40E-05 (-5)	-5,00E-06 (-1)	4,00E-05 (6)	0,00E+00 (0)	2,20E-05 (2)	6,70E-05 (6)	-4,70E-05 (-9)	-1,30E-05 (-3)	3,80E-05 (7)	-2,15E-02 (-4)	3,82E-02 (9)
R05157BM87	8,00E-05 (10)	7,50E-05 (9)	2,20E-05 (3)	1,06E-04 (9)	1,13E-04 (9)	5,40E-05 (4)	8,80E-05 (13)	6,50E-05 (10)	1,70E-05 (2)	1,31E-01 (27)	4,58E-02 (14)
R05157BM91	8,50E-05 (12)	6,80E-05 (9)	9,50E-05 (13)	1,15E-04 (10)	1,06E-04 (10)	1,32E-04 (12)	9,00E-05 (17)	5,40E-05 (10)	9,00E-05 (16)	1,26E-01 (22)	4,73E-02 (12)
R05157BM95	2,80E-05 (4)	4,50E-05 (6)	NA	4,60E-05 (4)	6,60E-05 (6)	NA	2,80E-05 (5)	4,10E-05 (8)	NA	3,35E-02 (7)	2,56E-02 (6)
R05157BM92	2,50E-05 (3)	3,70E-05 (5)	1,05E-04 (15)	6,80E-05 (6)	8,60E-05 (8)	1,19E-04 (11)	2,10E-05 (4)	2,30E-05 (5)	1,14E-04 (22)	2,76E-02 (5)	7,33E-02 (17)
R05157BM100	4,30E-05 (5)	1,90E-05 (2)	NA	8,80E-05 (7)	4,20E-05 (4)	NA	3,10E-05 (5)	1,60E-05 (3)	NA	-2,76E-02 (-5)	5,76E-02 (15)
R05157BM93	6,60E-05 (8)	9,10E-05 (12)	NA	8,50E-05 (7)	1,30E-04 (11)	NA	7,30E-05 (12)	7,60E-05 (13)	NA	1,08E-01 (22)	5,90E-02 (14)



Kuva 6. Diffuusioparametrien laatikkodiagrammit ja keskiarvo \pm keskihajonta (95 % luottamusväli)-kuvaajat. Laatikkodiagrammeissa viikset kuvaavat 1.5 x kvartiiliväliä ja pisteet parametrien arvojen jakautumista y-akselille. FA:n osalta havaittiin sekä arvojen laskua (1-2), että nousua (2-1). Muiden parametrien osalta ainoastaan arvojen nousua. ref = vertailu- tai lähtötaso

3.2 Diffuusioparametrimuutosten sijainti ja tilavuus

Tarkasteltaessa tilastollisesti merkitsevien muutosten sijaintia iso- ja pikkuaivojen, sekä aivorungon alueella, havaittiin ADC, AD ja RD parametreissa laaja-alaisia valkean aineen hermatorojen muutoksia. Näiden parametrien kasvua havaittiin pääasiassa valkean aineen alueilla sekä myös aivorungossa, pikkuaivoissa, tyvitumakkeissa, valkean ja harmaan aineen rajalla ja talamuksessa. Muutokset olivat laaja-alaisimpia ADC:n ja AD:n osalta, joiden tilastollisesti merkittävien kuva-alkioiden lukumäärä vaihteli 43569–59234 yksikön välillä. RD:n vokselimäärä vaihteli välillä 32333–37451. FA:n osalta havaittiin aivorunkoon ja pikkuaivoihin sijoittuvaa arvojen laskua ja oikean hemisfäärin valkean ja harmaan aineen sekä tyvitumakkeiden osalta arvojen nousua. Nämä muutokset vaihtelivat välillä 1713–2557 ollen pienempiä kuin ADC:n, AD:n ja RD:n muutokset. Kaikki muutokset koostuivat pääasiassa yhdestä tai kahdesta isosta lohkoista. FA:n positiivisissa muutoksissa oli erotettavissa viisi erillistä lohkoa. Muutoksien karkeat sijainnit, niiden tilavuusosuudet, vokselien ja lohkojen lukumäärät eri vertailuryhmien suhteen on esitetty taulukossa 5.

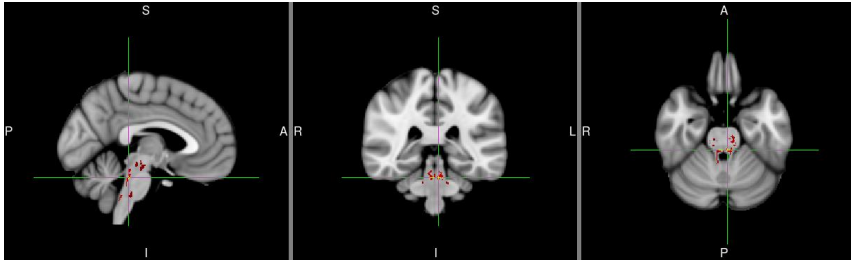
FSL-kirjaston lohkoanalyysityökalu (*Autoaq*) paikansi kullekin vertailuryhmälle tilastollisesti merkittävimmän muutoksen sijainnin. Kuvissa 7 ja 8 on esitetty merkittävimpien muutosten sijainnit ja niitä vastaavat diffuusioparametrien muutokset. Fraktionaalisen anisotropian merkittävin lasku sijaitsee aivorungossa ja muutos tässä kohdassa on -0,15. Vastaavasti FA:n merkittävin nousu sijaitsee oikean hemisfäärin valkean ja harmaan aineen rajoilla. Muutos tässä kohdassa on myös 0,15. Kvantitatiivisen diffuusiokertoimen merkittävin nousu sijoittuu vertailuryhmästä riippuen otsa-, päälaki- tai takaraivolohkon vasemman hemisfäärin valkean aineen alueille. ADC:n muutosväli näissä sijainneissa on $4,7\text{--}18 \times 10^{-5} \text{ mm}^2/\text{s}$. Aksiaalisen diffuusion merkittävin nousu sijoittuu vertailuryhmästä riippuen ohimo-, päälaki- ja takaraivolohkoihin oikean ja vasemman hemisfäärin valkean aineiden alueille. AD:n muutosväli näissä sijainneissa on $9,5\text{--}27 \times 10^{-5} \text{ mm}^2/\text{s}$. Radiaalisen diffuusion merkittävin nousu sijoittuu jokaisessa vertailuryhmässä otsalohkoon vasemman hemisfäärin valkean ja harmaan aineen alueille. RD:n muutosväli näissä sijainneissa on $12\text{--}28 \times 10^{-5} \text{ mm}^2/\text{s}$.

Taulukko 5. Diffuusioparametrien muutosten sijainnit, tilavuusosuudet ja koko. LCWM/RCWM = vasemman/oikean hemisfäärin valkea aine, LCC/RCC = vasemman/oikean hemisfäärin harmaa aine, LBG/RBG = vasemman/oikean puolen tyvitumake, BS = aivorunko, CB = pikkuaivot, LTH/RTH = talamus.

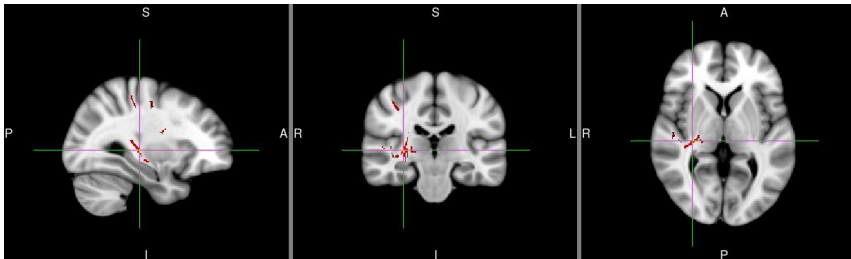
Vertailu-ryhmä	Lohkot [lkm]	Vokselit [lkm]	Muutosten sijainti ja tilavuusosuus [%]		
ADC	2-1	2	52293	LCWM 39 LCC 4 LBG 1 LTH 0,2	RCWM 36 RCC 5 RPG 1 RTH 0,3 BS 4 CB < 1
	3-1	1	46883	LCWM 45 LCC 5 LBG 1 LTH 0,2	RCWM 41 RCC 5 RBG 1 RTH 0,4 BS 0,26 CB 0
	5-1	1	46537	LCWM 45 LCC 5 LBG 1 LTH 0,1	RCWM 40 RCC 5 RBG 1 RTH 0,5 BS 1 CB 0
AD	2-1	1	59234	LCWM 41 LCC 5 LBG 1 LTH 0,2	RCWM 40 RCC 6 RBG 1 RTH 0,2 BS 2 CB < 1
	3-1	1	52598	LCWM 43 LCC 5 LBG 1 LTH 0,1	RCWM 42 RCC 6 RBG 1 RTH 0,3 BS 0,26 CB 0
	5-1	2	43569	LCWM 45 LCC 5 LBG 1 LTH 0	RCWM 41 RCC 6 RBG 1 RTH 0,4 BS 0,06 CB 0
RD	2-1	1	32333	LCWM 38 LCC 4 LBG 2 LTH 0,1	RCWM 31 RCC 4 RBG 2 RTH 0,3 BS 8 CB 1
	3-1	1	32743	LCWM 48 LCC 5 LBG 2 LTH 0,3	RCWM 39 RCC 5 RBG 2 RTH 0,6 BS 0 CB 0
	5-1	1	37451	LCWM 46 LCC 5 LBG 1 LTH 0,2	RCWM 40 RCC 5 RBG 1 RTH 0,6 BS 0,08 CB 0
FA	1-2	1	1713	LCWM 0 LCC 0 LBG 0 LTH 0	RCWM 0 RCC 0,01 RBG 0 RTH 0 BS 81 CB 1
	2-1	5	2557	LCWM 0 LCC 0 LBG 0 LTH 0	RCWM 82 RCC 13 RBG 3 RTH 1,3 BS 0 CB 0

FA

1-2:
aivorunko,
 $p \leq 0,01$,
 $\Delta 0,15$

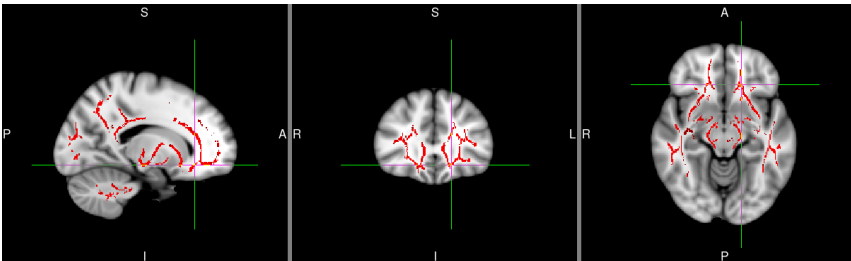


2-1:
RCWM/RBG
 $p \leq 0,01$,
 $\Delta 0,15$

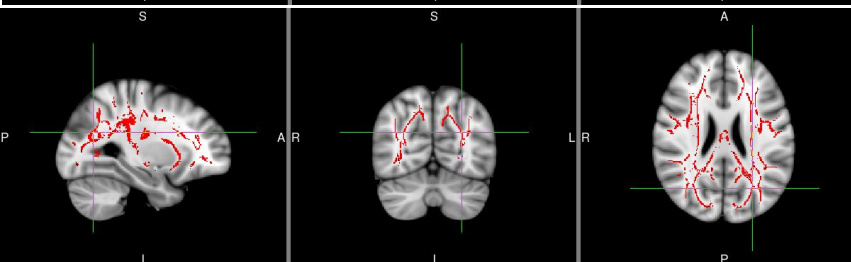


ADC

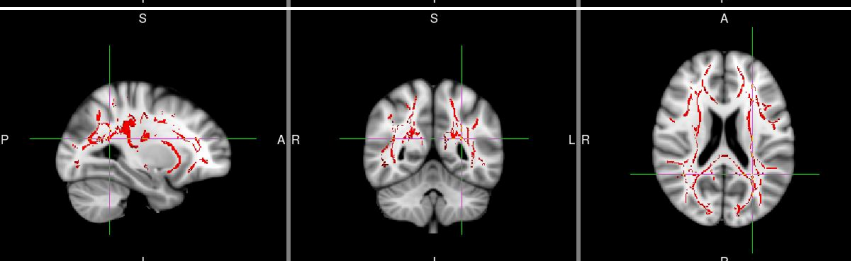
2-1:
otsalohko,
LCWM,
 $p \leq 0,001$,
 $\Delta 18 \times 10^{-5}$



3-1:
takaraivo-
lohko,
LCWM/LCC,
 $p \leq 0,001$,
 $\Delta 4,7 \times 10^{-5}$



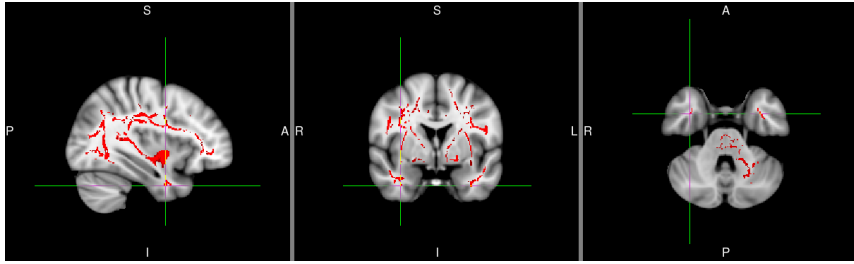
5-1:
päälaki-
lohko,
LCWM,
 $p \leq 0,002$,
 $\Delta 16 \times 10^{-5}$



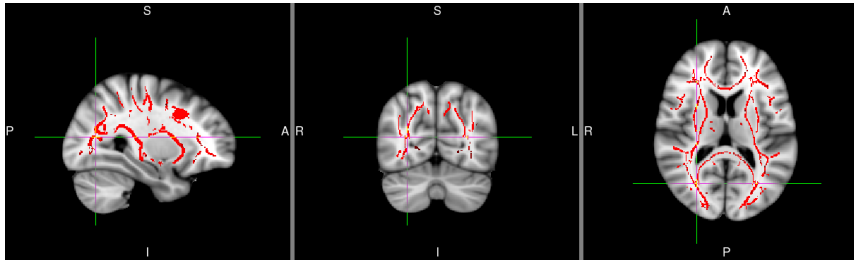
Kuva 7. Fraktionaalinen anisotropia (FA) ja kvantitatiivinen diffuusiokerroin (ADC), tilastollisesti merkittävimmän muutoksen sijainti (vihreä risti). Kuvan vasemman puolen selite ylhäältä alas: vertailuryhmä, muutoksen karkea sijainti, merkitsevyystaso, Δ = sijaintia vastaava parametrin muutoksen arvo. LCWM/RCWM = vasemman/oikean hemisfäärin valkea aine, LCC/RCC = vasemman/oikean hemisfäärin harmaa aine, LBG/RBG = vasemman/oikean puolen tyvitumake. Kuviin on punaisella merkitty muutosalueet, joissa $p \leq 0,05$.

AD

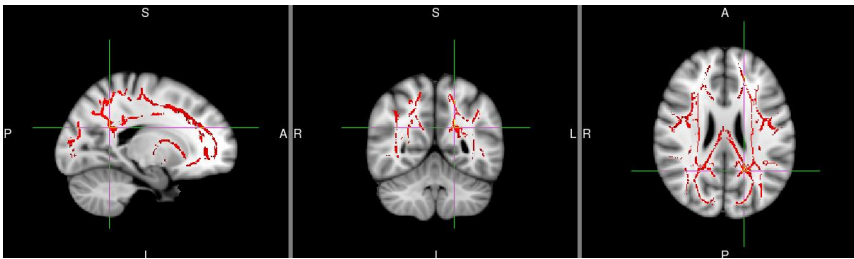
2-1:
ohimolohko,
RCWM,
 $p \leq 0,001$,
 $\Delta 9,5 \times 10^{-5}$



3-1:
takaraivo-
lohko,
LCWM,
 $p \leq 0,001$,
 $\Delta 17 \times 10^{-5}$

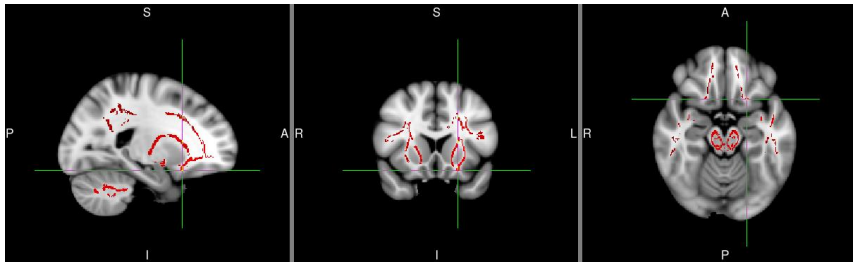


5-1:
pääalaki-
lohko,
LCWM,
 $p \leq 0,001$,
 $\Delta 27 \times 10^{-5}$

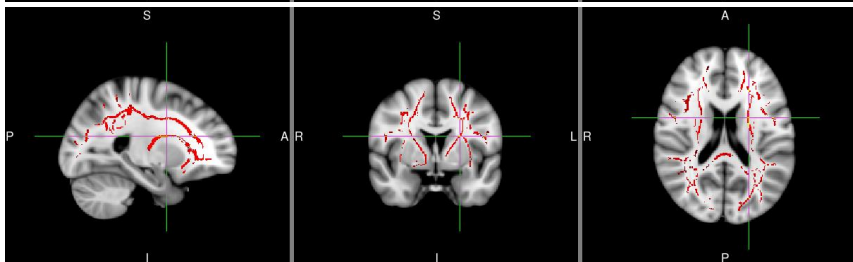


RD

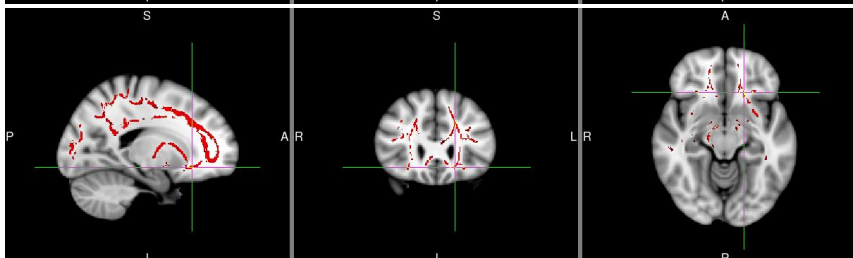
2-1:
otsalohko,
LCWM/LCC
 $p \leq 0,003$,
 $\Delta 12 \times 10^{-5}$



3-1:
otsalohko,
LCWM,
 $p \leq 0,002$,
 $\Delta 28 \times 10^{-5}$



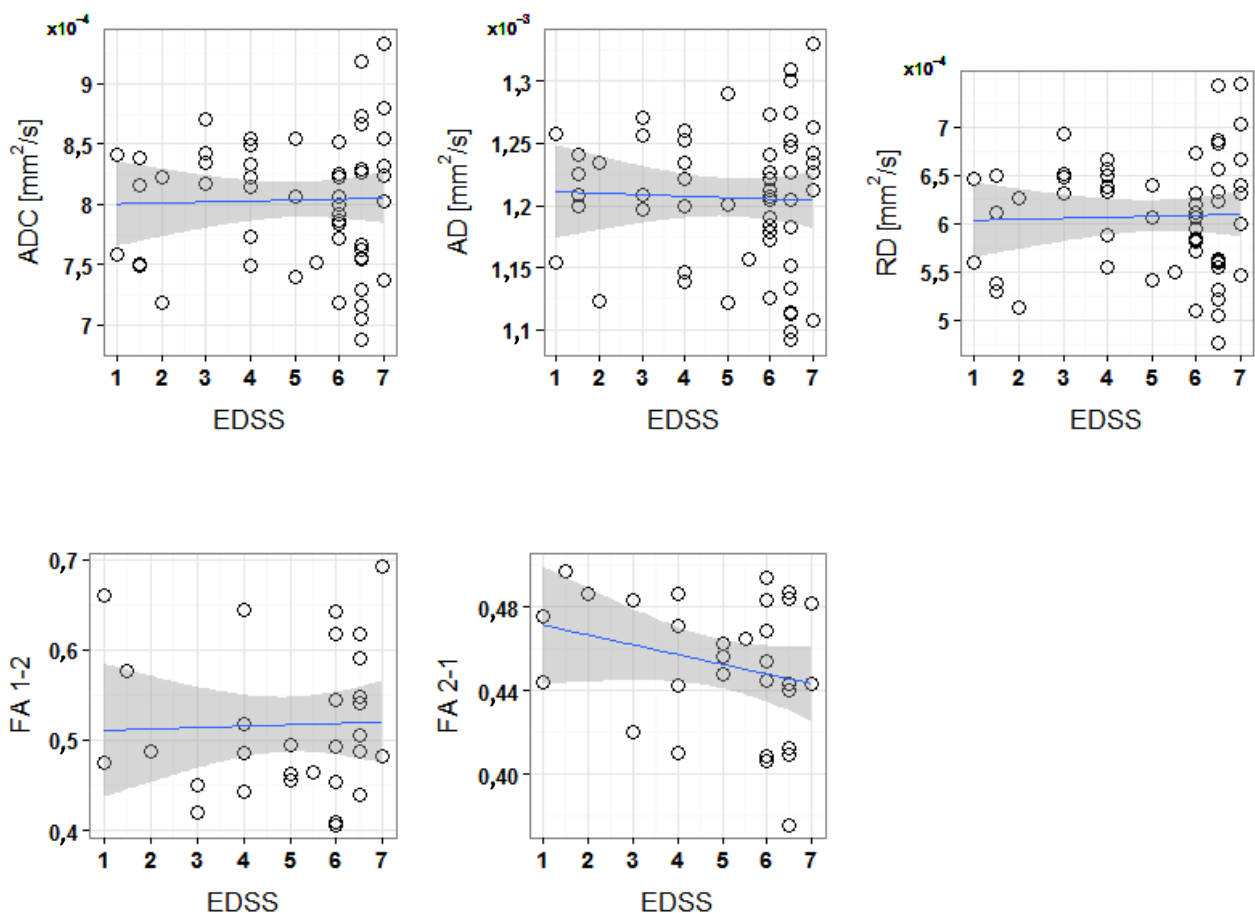
5-1:
otsalohko,
LCWM,
 $p \leq 0,007$,
 $\Delta 18 \times 10^{-5}$



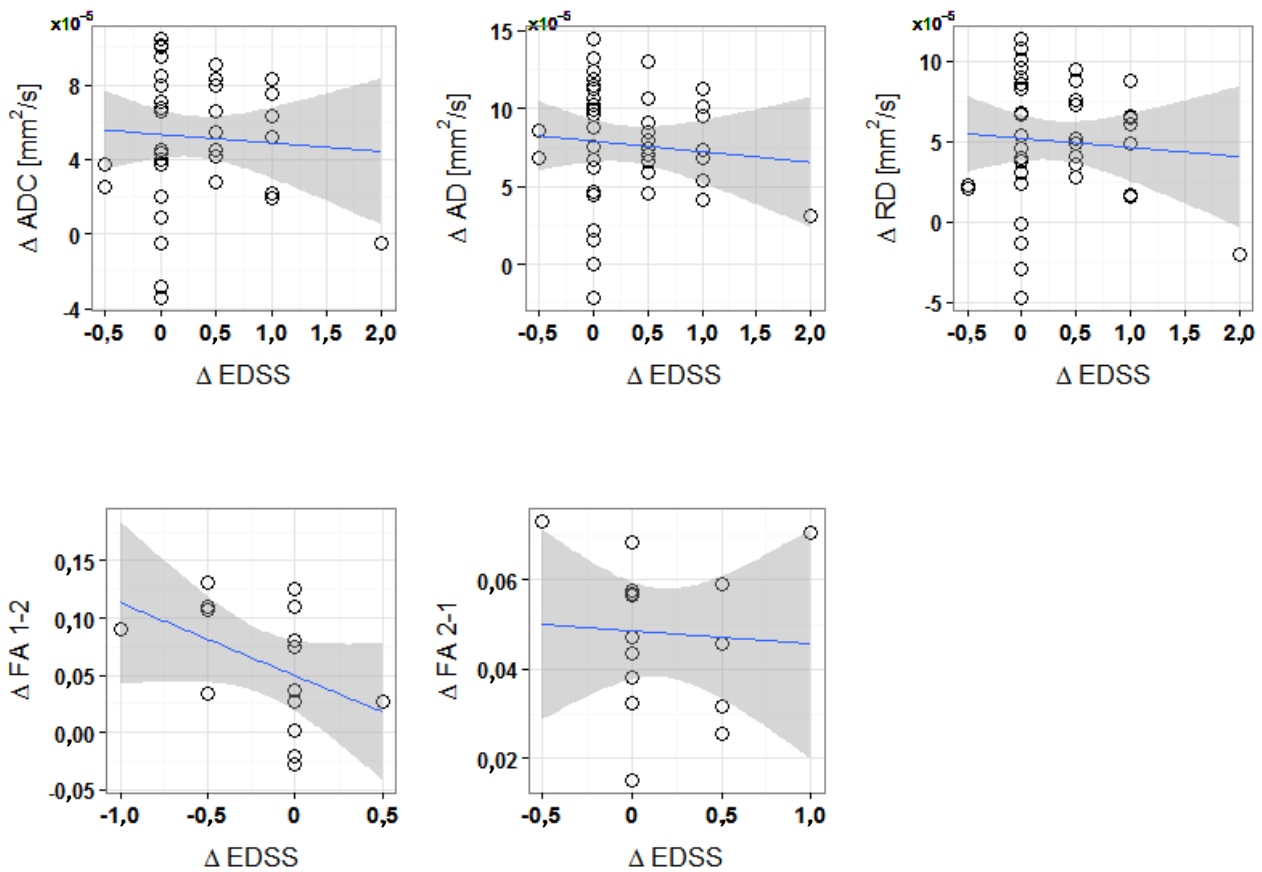
Kuva 8. Aksiaalinen ja radiaalinen diffuusio (AD, RD), tilastollisesti merkittävimmän muutoksen sijainti (vihreä risti). Kuvan vasemman puolen selite ylhäältä alas: vertailuryhmä, muutoksen karkea sijainti, merkitsevyystaso, Δ = sijaintia vastaava parametrin muutoksen arvo. LCWM/RCWM = vasemman/oikean hemisfäärin valkea aine, LCC/RCC = vasemman/oikean hemisfäärin harmaa aine, LBG/RBG = vasemman/oikean puolen tyvitumake. Kuviin on punaisella merkitty muutosalueet, joissa $p \leq 0,05$.

3.3 Diffuusioparametrien ja EDSS-asteikon muutosten korrelaatio

Korrelaatiota etsittiin diffuusioparametrien vuotuisten arvojen ja niitä vastaavien toimintakykyä kuvaavien EDSS-arvojen väliltä sekä diffuusioparametrien ja EDSS-arvojen vuotuisten muutosten väliltä. Koska EDSS-arvot eivät olleet normaalisti jakautuneita, päädyttiin korrelaatiolaskennassa käyttämään parametrissa Spearmanin järjestyskorrelaatiokerrointa. Kuvissa 9 ja 10 on esitetty pistekuviot ja lineaarinen regressiosuora, joiden avulla muuttujien yhteisvaihtelua arviointiin. Taulukossa 6 on esitetty Spearmanin korrelaatiokertoimet ja niiden tilastolliset merkitsevyystasot vuotuisille arvoille ja niiden muutoksille. Tilastollisesti merkittävää korrelaatiota ei löytynyt absoluuttisten arvojen eikä muutosten välillä.



Kuva 9. Pistekuviot vuosittaisten absoluuttisten diffuusioparametrien ja EDSS-arvojen suhteen. Kuvissa suora on lineaarinen regressioestimaatti ja harmaa alue kuvaa regressiomallin 95 %:n vaihteluväliä.



Kuva 10. Pistekuviot diffuusioparametrien ja EDSS-arvojen muutosten suhteen. Kuvissa suora on lineaarinen regressioestimaatti ja harmaa alue kuvaa regressiomallin 95 %:n vaihteluväliä.

Taulukko 6. Spearmanin korrelaatiokertoimet (ρ) diffuusioparametrien, EDSS arvojen ja niiden muutosten (Δ) suhteen. Sulkeissa tulosten tilastollinen merkitsevyys (p -arvo $\leq 0,05$ tilastollisesti merkitsevää).

	EDSS		Δ EDSS
ADC	0,05 (0,70)	Δ ADC	0,003 (0,99)
AD	0,01 (0,92)	Δ AD	-0,09 (0,57)
RD	0,03 (0,81)	Δ RD	0,002 (0,99)
FA12	0,17 (0,37)	Δ FA12	-0,45 (0,09)
FA21	-0,26 (0,17)	Δ FA21	-0,13 (0,63)

4 Pohdinta

Tässä tutkimuksessa seurattiin primaaris-progressiivista MS-tautia sairastavien diffuusiomagneettikuvista laskettujen diffuusioparametrien muutoksia noin viiden vuoden aikana. Kukin potilas toimi seurantatutkimuksessa omana verrokkinaan siten, että ensimmäiset diffuusiomagneettikuvat toimivat lähtötasona, johon myöhemmin otettuja kuvia verrattiin. Tilastollisesti merkittävät ($p \leq 0,05$) diffuusioparametrien muutokset esitettiin diffuusiokuvista kaikkien merkittävien kuva-alkioiden keskiarvona, koska analyysissä ei tarkasteltu mitään tiettyjä alueita vaan koko keskushermostoa kaudaalisesti ydinjatkeeseen saakka.

Tarkasteltaessa diffuusioparametrien muutoksia ryhmätasolla havaittiin, että merkitsevyystasolla $p \leq 0,05$ diffuusioparametrien arvot pääasiassa nousivat verrattuna lähtötasoon. Yksittäisillä potilailla arvot saattoivat myös laskea. Keskimääräiset diffuusioparametrien muutokset lähtötasosta olivat ryhmätasolla tarkasteltuna 6,5–12,0 %.

Diffuusioparametreista aksiaalisen (AD) ja radiaalisen diffuusion (RD), sekä kvantitatiivisen diffuusiokertoimen (ADC) arvojen nousu olivat tilastollisesti merkittäviä kaikissa vuosiryhmien vertailuissa. Arvojen nousu oli laaja-alaista ja ne sijoittuivat supratentoriaalisen valkean aineen, talamuksen, tyvitumakkeiden, pikkuaivojen, aivorungon sekä valkean ja harmaan aineen raja-alueille. ADC:n ja AD:n arvojen nousut olivat ajallisesti tarkasteltuna trendiltään lievästi nousujohteisia (ADC 0,5 %/vuosi, AD 0,26 %/vuosi), mutta virherajojen ollessa suuria, trendin paikkansapitävyys jää epävarmaksi. Kvantitatiivisen diffuusion kasvu on yhdistetty muun muassa tulehdukseen, iskemiaan ja kudosten vesipitoisuuden nousuun, dysmyelinisaatioon ja demyelinisaatioon (53). Radiaalisen diffuusion nousu on yhdistetty aksonien myeliinikatoon ja aksiaalisen diffuusion lasku aksonien integriteetin heikkenemiseen (54).

Fraktionaalisessa anisotropiassa (FA) havaittiin tilastollisesti merkitsevää ($p \leq 0,05$) arvojen nousua ja myös laskua vertailtaessa vuosiryhmiä 1 ja 2. Muiden vuosiryhmien vertailuissa ei havaittu FA:n

arvojen muutoksissa tilastollisesti merkitseviä muutoksia. FA:n muutokset olivat tilavuudeltaan 10–30 kertaa pienempiä kuin AD:n, RD:n ja ADC:n muutokset. Fraktionaalisen anisotropian arvojen laskua havaittiin pikkuaivojen ja aivorungon alueella. Kirjallisuuden mukaan vähentynyt anisotropia on yhdistetty epäspesifisesti aksonien patologiaan tiloihin, muun muassa demyelinisaatioon, aksoneiden integriteetin heikkenemiseen ja tarkasteltujen vokselien sisällä risteäviin hermoratoihin (53,55). Fraktionaalisen anisotropian arvojen nousua havaittiin oikean hemisfäärin supratentoriaaliseen valkeaan aineeseen, valkean ja harmaan aineen raja-alueille, oikeaan talamukseen ja tyvitumakkeeseen. Kirjallisuuden perusteella kohonneet FA arvot liittyvät neuronien korkeaan myeliinipitoisuuteen tai korkeaan neuronitiheyteen (56). Tässä tapauksessa FA arvojen nousu voisi liittyä esimerkiksi PPMS:n aiheuttamien keskushermoston leesioden korjausrytykseen, eli remyelinisaatioon.

MS-taudissa, myös sen primaaris-progressiivisessa muodossa esiintyy vaihtelevasti ja usein myös samanaikaisesti tulehdusta, myeliinikatoa, aksonikatoa ja vastaavasti näiden korjausprosesseja. Tässä tutkimuksessa havaitut laaja-alaiset ADC:n nousut ilman merkittävää FA:n muutosta, jotka johtuivat samanaikaisesta RD:n ja AD:n noususta, voisivat selittyä lievänä myeliinikatona ja kudosten vesipitoisuuden kasvuna esimerkiksi PPMS:ään liittyvien tulehduksellisten muutosten ja aivoatrofian johdosta. Samankaltaisia ADC:n laaja-alaisia muutoksia löysi myös Schmierer et al. omassa tutkimukseen vuonna 2004 (6). Muutokset eivät olleet prosentuaalisesti kovin suuria, keskihajonta tuloksissa oli suurta ja ne olivat laaja-alaisia, joten niiden kliinistä merkitystä on vaikea arvioida. Aivorungon ja pikkuaivojen alueella havaittu anisotropian lasku oli noin 12 % lähtötilanteeseen verrattuna. Anisotropian lasku oli seurausta radiaalisen diffuusion suuremmasta kasvusta verrattuna aksiaaliseen diffuusioon, joka viittaisi selkeämmin demyelinisaatiomuutoksiin. Osa muutoksista osui kortikospinaaliradan alueille, joten näillä muutoksilla voisi olla kliinistä merkitystä toimintakykyyn. Koska tässä tutkimuksessa ei ollut mukana terveitä verrokkeja, on vaikea arvioida, ovatko havaitut löydökset poikkeavia vai normaaliin ikääntymiseen liittyviä löydöksiä.

Nostamalla tilastollisen merkitsevyyden kynnyistä päädyttiin 5. kappaleen kuvissa 6 ja 7 esitettyihin tuloksiin, joissa on esitetty kunkin diffuusioparametrin ja vertailuryhmän osalta tilastollisesti merkittävimmän vokselin sijainti ja sitä vastaava muutoksen arvo. AD:n ja ADC:n osalta sijainnit

vaihtelivat otsa-, ohimo-, päälaki, takaraivo-lohkojen valkean aineen välillä. RD:n osalta kaikissa vertailuryhmissä tilastollisesti merkittävin muutos sijoittui vasemman otsalohkon alueelle. Laskevan FA:n osalta merkittävin muutos sijoittui aivorungon alueelle ja FA:n nousun osalta oikean hemisfäärin valkeaan aineeseen. Edellä mainituista tuloksista nousee esiin RD:n tilastollisesti merkitsevin sijainti vasemmassa otsalohkossa kaikissa vertailuryhmissä. Tässä tutkimuksessa löydöksen kliininen merkitys jää avoimeksi, mutta aiemmin Schmierer et al. on yhdistänyt otsalohkon ADC:n kasvun heikentyneeseen toimintakykyyn: $0,01 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ ADC:n nousu vähensi MSFC-pisteitä 0,18 yksikköä (6). Lisäksi FA:n lasku aivorungossa demyelinisaatioon viitaten on toinen alue, jolla voisi olla kliinistä merkitystä toimintakykyyn.

Tässä työssä etsittiin myös korrelaatiota diffuusioparametrien ja EDDS-luokituksen välillä. Tilastollisesti merkittäviä Spearmanin korrelaatiokertoimia ei kuitenkaan löytynyt tarkasteltaessa absoluuttisia diffuusioparametrien ja EDSS-luokitusten arvoja, eikä myöskään tarkasteltaessa niiden muutoksia. Yhtenä heikkoutena korrelaatio-analyysissä oli se, että tutkittavien EDSS-luokitus muuttui koko seuranta-aikana hyvin vähän, keskimäärin vain 0,5 yksikköä per tutkittava. Korrelaatio-analyysi toteutettiin tässä työssä tarkastelemalla tutkittavien diffuusioparametrien arvoja keskiarvoistamalla ne kaikkien tilastollisesti merkitsevien kuva-alkioiden yli, mikä todennäköisesti heikentää korrelaatioita erityisesti tässä tapauksessa, kun muutoksia oli keskushermostossa laajoilla alueilla ja muutokset EDSS pisteytyksessä liittyvät pääasiassa kortikospinaaliradan muutoksiin.

Vahvuuksia ja heikkouksia tarkasteltaessa tämän aineiston koko on verrattavissa esimerkiksi Schmierer et al.:n (6) ja Harrison et al.:n (5) tutkimuksiin, joissa otoskoot primaaris-progressiivista tautia sairastavien tutkittavien osalta olivat 14 ja 15 tutkittavaa. Harrison et al. arvioivat tutkimuksessaan riittävää otoskokoa 1–2 vuoden pituisille kliinisille tutkimuksille, joissa muuttujina olivat diffuusioparametrit. Riittävä otoskoko vaihteli välillä 3–810 tutkittavaa ja riippui odotetuista parametrien muutosten suuruudesta ja tutkitusta aivojen alueesta. Heikkoutena voidaan ajatella tuloksien voimakasta keski-arvoistusta, eli käytettiin kunkin potilaan kaikkien tilastollisesti merkittävien kuva-alkioiden diffuusioparametrien keskiarvoja. Tällöin mahdolliset suuret poikkeamat keskiarvoista ovat melko epätodennäköisiä mutta voimakas keski-arvoistus heikentää samalla tilastollista voimaa erojen jäädessä absoluuttisesti pienemmiksi. Muita

sekoittavia tekijöitä tässä työssä on ikääntymiseen liittyvät neurodegeneratiiviset tekijät (57), kuten FA:n lasku tai RD:n nousu, sekä hermoratakartoitukseen, myös TBSS-menetelmään, liittyvä yleisesti tunnettu risteävien hermoratojen ongelma, joka voi johtaa FA:n nousuun tai laskuun ilman todellista patofysiologista syytä. Tutkimuksen vahvuuksina mainittakoon, että kaikki aineiston tutkittavat toimivat itse omina verrokkeinaan, jolloin vertailuryhmien välillä ei ole juuri muita sekoittavia tekijöitä kuin ikääntyminen. Lisäksi käytetty kahden riippuvan muuttujan analysointimenetelmä oli yksinkertainen, jolloin itse analyysin teossa virhealttius oli todennäköisesti vähäinen.

TBSS-analyysin tuloksena tässä työssä laajoilla keskushermoston alueilla havaittiin muutoksia, joiden sovitus kliiniseen kuvaan on haastavaa. Etukäteen valittujen keskushermoston suppeiden alueiden seuranta, jossa muutosten vaikutus kliiniseen kuvaan tunnetaan, voisi tuottaa täydentävää tietoa tähän tutkimukseen. TBSS-analyysistä ja suppeampien kiinnostavien alueiden tarkastelusta tiedetään menetelminä, että ne ovat osittain komplementaarisia ja siten toisiaan täydentäviä (58). Täydellisimmän kokonaiskuvan voisi saada tulevaisuudessa tekemällä analyysit siten, että ensin tuotetaan yleiskuva muutoksista TBSS-analyysin avulla, jonka jälkeen keskitytään tiettyihin, esimerkiksi liikuntakyvyn tai kognitiivisten toimintojen kannalta oleellisiin keskushermoston alueisiin ja tarkasteltaisiin niiden muutoksia tarkemmin. Tämä voisi mahdollistaa esimerkiksi korrelaatioiden löytymisen EDSS-luokituksen kanssa. Terveistä koostuvan vertailuryhmän käyttäminen jatkossa tehtävissä tutkimuksissa lisäisi todennäköisesti analyysin erottelukykyä normaalin ja epänormaalin keskushermoston diffuusioparametrien ajallisen kehityksen suhteen.

Kiitokset tässä työssä avustamisesta osoitan apulaisfyysikko Tero Ilvesmäelle, sairaalafyysikko Ullamari Hakuliselle, työni toiselle tarkastajalle Marja-Liisa Sumelahdelle ja vastuuohjaajalleni professori Irina Elovaaralle.

5 Lähteet

1. Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Cohen JA, Filippi M, ym. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol*. 2011;69(2):292–302.
2. Gaillard F. MRI sequences (overview) | Radiology Reference Article | Radiopaedia.org [Internet]. Radiopaedia. [viitattu 6. maaliskuuta 2016]. Noudettu osoitteesta: <http://radiopaedia.org/articles/mri-sequences-overview>
3. Lassmann H, van Horssen J, Mahad D. Progressive multiple sclerosis: pathology and pathogenesis. *Nat Rev Neurol*. 5. marraskuuta 2012;8(11):647–56.
4. Larsson HB, Thomsen C, Frederiksen J, Stubgaard M, Henriksen O. In vivo magnetic resonance diffusion measurement in the brain of patients with multiple sclerosis. *Magn Reson Imaging*. 1992;10(1):7–12.
5. Harrison DM, Caffo BS, Shiee N, Farrell JAD, Bazin P-L, Farrell SK, ym. Longitudinal changes in diffusion tensor-based quantitative MRI in multiple sclerosis. *Neurology*. 2011;76(2):179–186.
6. Schmierer K, Altmann DR, Kassim N, Kitzler H, Kerskens CM, Doege CA, ym. Progressive change in primary progressive multiple sclerosis normal-appearing white matter: a serial diffusion magnetic resonance imaging study. *Mult Scler*. 2004;10(2):182–7.
7. MS-tauti [Internet]. Käypä hoito -suositus. Suomalaisen Lääkäriseura Duodecimin ja Suomen Neurologinen yhdistys ry:n asettama työryhmä. Helsinki: Suomalainen Lääkäriseura Duodecim 2015. 2015 [viitattu 30. maaliskuuta 2016]. Noudettu osoitteesta: <http://www.kaypahoito.fi/web/kh/suosituksat/suositus?id=hoi36070>
8. Birnbaum G. Multiple sclerosis. Cary, NC, USA: Oxford University Press; 2009.
9. Ruutiainen J, Tienari P. MS-tauti ja muut demyelinaatiosairaudet. Teoksessa: *Neurologia*.
10. Atula S. MS-tauti (multippeliskleroosi) :: Terveyskirjasto [Internet]. 2012 [viitattu 4. tammikuuta 2015]. Noudettu osoitteesta: http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00048
11. Koch-Henriksen N. The danish multiple sclerosis registry: A 50-year follow-up. *Mult Scler*. 1999;5(4):293–296.
12. Mayr WT, Pittock SJ, McClelland RL, Jorgensen NW, Noseworthy JH, Rodriguez M. Incidence and prevalence of multiple sclerosis in Olmsted County, Minnesota, 1985-2000. *Neurology*. 2003;61(10):1373–7.

13. Rinne UK, Panelius M, Kivalo E, Hokkanen E, Palo J. Distribution of multiple sclerosis in Finland, with special reference to some geological factors. *Acta Neurol Scand.* 1966;42(4):385–99.
14. Krokki O, Bloigu R, Reunanen M, Remes A. Increasing incidence of multiple sclerosis in women in Northern Finland. *Mult Scler J.* 2011;17(2):133–8.
15. Sarasoja T, Wikstrom J, Paltamaa J, Hakama M, Sumelahti M-L. Occurrence of multiple sclerosis in central Finland: a regional and temporal comparison during 30 years. *Acta Neurol Scand.* 2004;110(5):331–6.
16. Sumelahti ML, Tienari PJ, Wikstrom J, Palo J, Hakama M. Regional and temporal variation in the incidence of multiple sclerosis in Finland 1979-1993. *Neuroepidemiology.* 2000;19(2):67–75.
17. Wikstrom J. Studies on the clustering of multiple sclerosis in Finland II: microepidemiology in one high-risk county with special reference to familial cases. *Acta Neurol Scand.* 1975;51(3):173–83.
18. Kinnunen E, Wikstrom J, Porras J, Palo J. The epidemiology of multiple sclerosis in Finland: increase of prevalence and stability of foci in high-risk areas. *Acta Neurol Scand.* 1983;67(5):255–62.
19. Pohl D. Epstein–Barr virus and multiple sclerosis. *J Neurol Sci.* 2009;286(1–2):62–4.
20. Ascherio A, Munger KL, Lennette ET, Spiegelman D, Hernán MA, Olek MJ, ym. Epstein-Barr virus antibodies and risk of multiple sclerosis: a prospective study. *JAMA.* 2001;286(24):3083–8.
21. Bermel RA, Bakshi R. The measurement and clinical relevance of brain atrophy in multiple sclerosis. *Lancet Neurol.* 2006;5(2):158–70.
22. Ascherio A, Munger KL, Lünemann JD. The initiation and prevention of multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol.* 2012;8(11):602–12.
23. Hansen T, Skytthe A, Stenager E, Petersen H, Brønnum-Hansen H, Kyvik K. Concordance for multiple sclerosis in Danish twins: an update of a nationwide study. *Mult Scler.* 2005;11(5):504–10.
24. Willer CJ, Dymment DA, Risch NJ, Sadovnick AD, Ebers GC, others. Twin concordance and sibling recurrence rates in multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci.* 2003;100(22):12877–12882.
25. Ebers GC, Sadovnick AD, Risch NJ. A genetic basis for familial aggregation in multiple sclerosis. Canadian Collaborative Study Group. *Nature.* 1995;377(6545):150–1.
26. Haines JL, Terwedow HA, Burgess K, Pericak-Vance MA, Rimmeler JB, Martin ER, ym. Linkage of the MHC to familial multiple sclerosis suggests genetic heterogeneity. The Multiple Sclerosis Genetics Group. *Hum Mol Genet.* 1998;7(8):1229–34.
27. Sadovnick AD. Genetic background of multiple sclerosis. *Autoimmun Rev.* 2012;11(3):163–6.

28. Schmidt H, Williamson D, Ashley-Koch A. HLA-DR15 haplotype and multiple sclerosis: a HuGE review. [Review] [138 refs]. *J Epidemiol.* 2007;165(10):1097–109.
29. Acheson ED, Bachrach CA, Wright FM. Some comments on the relationship of the distribution of multiple sclerosis to latitude, solar radiation, and other variables. *Acta Psychiatr Scand Suppl.* 1960;35(147):132–47.
30. Gale CR, Martyn CN. Migrant studies in multiple sclerosis. [Review] [79 refs]. *Prog Neurobiol.* 1995;47(4–5):425–48.
31. McLeod JG, Hammond SR, Kurtzke JF. Migration and multiple sclerosis in immigrants to Australia from United Kingdom and Ireland: a reassessment. I. Risk of MS by age at immigration. *J Neurol.* 2011;258(6):1140–9.
32. Ascherio A, Munch M. Epstein-Barr virus and multiple sclerosis. *Epidemiology.* 2000;11(2):220–4.
33. Thacker EL, Mirzaei F, Ascherio A. Infectious mononucleosis and risk for multiple sclerosis: A meta-analysis. *Ann Neurol.* 2006;59(3):499–503.
34. Edwards JC. Principles of NMR [Internet]. Process NMR Associates LCC, 87A Sand Pit Rd, Danbury CT 06810. Noudettu osoitteesta: <http://www.process-nmr.com/pdfs/NMR%20Overview.pdf>
35. Basser PJ, Mattiello J, LeBihan D. MR diffusion tensor spectroscopy and imaging. *Biophys J.* 1994;66(1):259–67.
36. Conturo TE, Lori NF, Cull TS, Akbudak E, Snyder AZ, Shimony JS, ym. Tracking neuronal fiber pathways in the living human brain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 31. 1999;96(18):10422–7.
37. Hiltunen J, Seppä M, Hari R. Diffuusiotsensorikuvaus hermoratojen tutkimuksessa. *Duodecim.* 2007;123(15):1851–8.
38. Pierpaoli C, Jezzard P, Basser PJ, Barnett A, Di Chiro G. Diffusion tensor MR imaging of the human brain. *Radiology.* 1996;201(3):637–48.
39. Jenkinson M, Beckmann CF, Behrens TEJ, Woolrich MW, Smith SM. FSL. *NeuroImage.* 15. 2012;62(2):782–90.
40. Smith SM, Jenkinson M, Woolrich MW, Beckmann CF, Behrens TEJ, Johansen-Berg H, ym. Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. *NeuroImage.* 2004;23 Suppl 1:208–219.
41. Woolrich MW, Jbabdi S, Patenaude B, Chappell M, Makni S, Behrens T, ym. Bayesian analysis of neuroimaging data in FSL. *NeuroImage.* 2009;45(1 Suppl):173–186.
42. Ilvesmäki T. Neural Tract Analysis; a Software Implementation. Tampereen Teknillinen Yliopisto; 2012.
43. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology.* 1983;33(11):1444–52.

44. Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC) [Internet]. National Multiple Sclerosis Society. [viitattu 30. maaliskuuta 2016]. Noudettu osoitteesta: [http://www.nationalmssociety.org/For-Professionals/Researchers/Resources-for-Researchers/Clinical-Study-Measures/Multiple-Sclerosis-Functional-Composite-\(MSFC\)](http://www.nationalmssociety.org/For-Professionals/Researchers/Resources-for-Researchers/Clinical-Study-Measures/Multiple-Sclerosis-Functional-Composite-(MSFC))
45. Jenkinson M. GLM - FslWiki [Internet]. General linear model. [viitattu 9. kesäkuuta 2015]. Noudettu osoitteesta: http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/GLM#Single-Group.2C_Three_Measurements_.28.22Tripled_T-Test.22.29
46. Medical imaging & Technology Alliance. DICOM Standard 2015 [Internet]. [viitattu 7. tammikuuta 2016]. Noudettu osoitteesta: <http://dicom.nema.org/standard.html>
47. Jenkinson M. NIfTI-1 Data Format — Neuroimaging Informatics Technology Initiative [Internet]. [viitattu 8. heinäkuuta 2014]. Noudettu osoitteesta: <http://nifti.nimh.nih.gov/nifti-1/>
48. Lewis Center for NeuroImaging. MRIConvert: a nifty DICOM converter. [Internet]. [viitattu 8. tammikuuta 2016]. Noudettu osoitteesta: <http://lcni.uoregon.edu/~jolinda/MRIConvert/>
49. Smith SM, Jenkinson M, Johansen-Berg H, Rueckert D, Nichols TE, Mackay CE, ym. Tract-based spatial statistics: voxelwise analysis of multi-subject diffusion data. *NeuroImage*. 15. 2006;31(4):1487–505.
50. Smith SM. Fast robust automated brain extraction. *Hum Brain Mapp*. 2002;17(3):143–55.
51. R Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. [Internet]. Wien, Itävalta: R Foundation for Statistical Computing; [viitattu 10. tammikuuta 2016]. Noudettu osoitteesta: <https://www.r-project.org/>
52. Winkler AM, Ridgway GR, Webster MA, Smith SM, Nichols TE. Permutation inference for the general linear model. *NeuroImage*. 2014;92:381–97.
53. Rovaris M, Agosta F, Pagani E, Filippi M. Diffusion Tensor MR Imaging. *Neuroimaging Clin N Am*. 2009;19(1):37–43.
54. Song S-K, Sun S-W, Ramsbottom MJ, Chang C, Russell J, Cross AH. Dysmyelination Revealed through MRI as Increased Radial (but Unchanged Axial) Diffusion of Water. *NeuroImage*. 2002;17(3):1429–36.
55. Boretius S, Escher A, Dallenga T, Wrzos C, Tammer R, Brück W, ym. Assessment of lesion pathology in a new animal model of MS by multiparametric MRI and DTI. *NeuroImage*. 2012;59(3):2678–88.
56. Feldman HM, Yeatman JD, Lee ES, Barde LHF, Gaman-Bean S. Diffusion Tensor Imaging: A Review for Pediatric Researchers and Clinicians. *J Dev Behav Pediatr JDBP*. 2010;31(4):346–56.
57. Davis SW, Dennis NA, Buchler NG, White LE, Madden DJ, Cabeza R. Assessing the effects of age on long white matter tracts using diffusion tensor tractography. *NeuroImage*. 2009;46(2):530–41.

58. Snook L, Plewes C, Beaulieu C. Voxel based versus region of interest analysis in diffusion tensor imaging of neurodevelopment. *NeuroImage*. 2007;34(1):243–52.